

Aus dem Institut für Neuropsychopharmakologie
Psychiatrische und Neurologische Klinik
und Poliklinik der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Helmut Coper

Untersuchungen zur Differenzierung zentralnervöser Funktionsstörungen durch einen Antimetaboliten des Nicotinamids

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Horst Lison

aus Rosmierka

1969

Druck:
ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.
DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE
1 Berlin 33, Garystr. 45

Aus dem Institut für Neuropsychopharmakologie
Psychiatrische und Neurologische Klinik
und Poliklinik der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Helmut Coper

Untersuchungen zur Differenzierung zentralnervöser Funktionsstörungen durch einen Antimetaboliten des Nicotinamids

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Horst Lison

aus Rosmierka

Dekan: Professor Dr. med. Hans Heinz N a u m a n n
Referent: Professor Dr. med. Helmut C o p e r
Korreferent: Priv.Do. Dr. med. Dipl.-Chem.
Franz v. Bruchhausen



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 1. Februar 1969

I. Signalwege

II. Verfahren

- 1. Beschreibung des Verfahrens
- 2. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 3. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 4. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 5. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 6. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 7. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 8. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung
- 9. Beschreibung des Verfahrens zur Datenübertragung

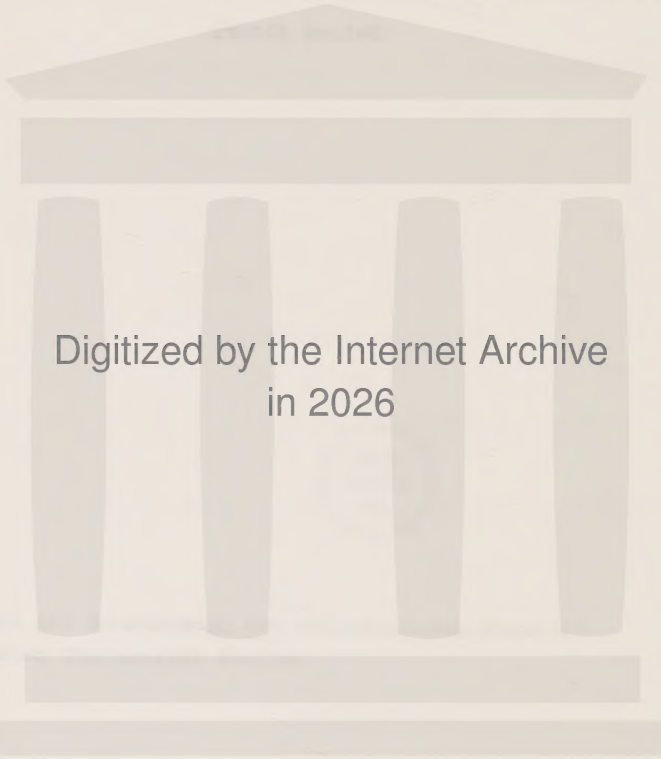
Meinen Eltern

III. Ergebnisse

- 1. Ergebnisse des Verfahrens
- 2. Ergebnisse des Verfahrens
- 3. Ergebnisse des Verfahrens
- 4. Ergebnisse des Verfahrens
- 5. Ergebnisse des Verfahrens
- 6. Ergebnisse des Verfahrens
- 7. Ergebnisse des Verfahrens
- 8. Ergebnisse des Verfahrens
- 9. Ergebnisse des Verfahrens
- 10. Ergebnisse des Verfahrens
- 11. Ergebnisse des Verfahrens
- 12. Ergebnisse des Verfahrens
- 13. Ergebnisse des Verfahrens
- 14. Ergebnisse des Verfahrens
- 15. Ergebnisse des Verfahrens
- 16. Ergebnisse des Verfahrens
- 17. Ergebnisse des Verfahrens
- 18. Ergebnisse des Verfahrens
- 19. Ergebnisse des Verfahrens
- 20. Ergebnisse des Verfahrens

IV. Zusammenfassung

- 1. Zusammenfassung
- 2. Zusammenfassung
- 3. Zusammenfassung
- 4. Zusammenfassung
- 5. Zusammenfassung
- 6. Zusammenfassung
- 7. Zusammenfassung
- 8. Zusammenfassung
- 9. Zusammenfassung
- 10. Zusammenfassung



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	<u>Seite</u>
I. E i n l e i t u n g	4
II. M e t h o d i k	8
1. Bestimmung von 6-AN im Urin	9
2. Bestimmung von Körpergewicht und Körpertemperatur	
a) Körpergewicht	11
b) Körpertemperatur	11
3. Bestimmung der Hexobarbitalnarkose	12
4. Messung der Laufmotorik	13
5. Bestimmung der Glucose im Blut	17
6. Statistische Auswertung	18
III. E r g e b n i s s e	
1. Ausscheidung von 6-AN mit dem Urin	19
a) Renale Ausscheidung von 6-AN in Abhängigkeit von der Zeit	19
b) Renale Ausscheidung von 6-AN in Abhängigkeit von der Dosis	
aa) nach einmaliger Gabe	21
bb) nach täglicher Gabe	21
2. Einfluß von 6-AN auf das Körpergewicht	23
3. Körpertemperatur unter dem Einfluß von 6-AN	25
4. Einfluß des 6-AN auf die Dauer der Hexobarbitalnarkose	29
5. Einfluß von 6-AN auf die Laufmotorik	34
6. Glucose im Blut nach Gabe von 6-AN	37
IV. D i s k u s s i o n	
1. Körpertemperatur	40
2. Hexobarbitalnarkose	42
3. Laufmotorik	45

	<u>Seite</u>
4. Glucose/Körpergewicht	48
5. Urinausscheidung	50
6. Zusammenfassende Diskussion	51
V. Zusammenfassung	55
VI. Tabellen	
Tabelle 1	52
Tabelle 2 - 9	58
VII. Literaturverzeichnis	69

I. EINLEITUNG

6-Aminonicotinsäureamid (6-AN), ein Antimetabolit des Nicotinsäureamids, kann nach Anreicherung in der Zelle das Nicotinamid in den Pyridinnucleotiden NAD und NADP fermentativ verdrängen (DIETRICH et al. 1958; BRUNNEMANN et al. 1964). Die auf diese Weise entstehenden falsch strukturierten Coenzyme sind nicht hydrierbar und können daher den Wasserstofftransport in den Oxydoreduktasesystemen der Zelle nicht mehr katalysieren. Für einige Dehydrogenasereaktionen sind sie sogar Hemmstoffe (DIETRICH et al. 1958; BRUNNEMANN et al. 1964). Darüber hinaus hemmen sie auch eine Reihe von Phosphokinasen (v. BRUCHHAUSEN 1964).

Nach Injektion von 6-AN werden bei Ratten die absolut höchsten Konzentrationen der 6-AN-Analogen des NAD(P) in Niere, Leber, Lungen und Gehirn gefunden, wobei relativ weit mehr NADP als NAD in das "falsche" Coenzym umgewandelt wird. Herz und Muskelgewebe weisen dagegen nur geringe Konzentrationen an 6-ANAD(P) auf (JOHNSON u. McCOLL 1956; DIETRICH 1958; BRUNNEMANN u. COPER 1963; HERKEN u. NEUHOFF 1964; COPER et al. 1966). Diese ungleiche Verteilung sagt jedoch nichts über die Lokalisation und Prädi-
lektion der toxischen Effekte aus. Im Gehirn werden z.B. die höchsten Konzentrationen von 6-ANAD(P) im Bereich des Hypothalamus gefunden (COPER et al. 1966); pathohistologisch lassen sich aber in dieser Region keinerlei Veränderungen nachweisen (SCHNEIDER 1968).

6-AN ruft nach unterschiedlicher Latenzzeit Störungen des Mineralhaushaltes (HERKEN et al. 1964, 1966; SENFT et al. 1966; WIEDERHOLT et al. 1968), der Kohlehydrattoleranz (v. BRUCHHAUSEN u. HERKEN 1966; v. BRUCHHAUSEN 1965; SCHACHT et al. 1965; SCHULTZ et al. 1966) und des Zentralnervensystems hervor (JOHNSON u. McCOLL 1955, 1956; STERNBERG und PHILIPS 1958; WOLF u. GELLER 1962; COPER u. HERKEN 1963; BRUNNEMANN u. COPER 1963; GELLER 1966).

Zunächst tritt eine vermehrte Natriumelimination auf, die ihren Höhepunkt zwischen der sechsten und achten Stunde p.i. erreicht. Gleichzeitig kommt es zu intrazellulären Elektrolytverschiebungen. Ebenfalls relativ bald nach der Applikation ist eine Hyperglykämie zu beobachten; sie beruht auf einer Freisetzung von Adrenalin (SCHACHT et al. 1965), die noch durch eine Glucoseverwertungsstörung verstärkt wird, da steigende Dosen von 6-AN den insulinabhängigen Glucosetransport beeinflussen (v. BRUCHHAUSEN 1965; SCHULTZ et al. 1966). Die von v. HERRATH (1968) beschriebene Stimulation der Glycogensynthese macht sich wesentlich später bemerkbar und wird vermutlich zentral durch eine Reizung des Hypophysennebennierenrindensystems hervorgerufen. Hohe, sicher zum Tod der Tiere führende Dosen von 6-AN wirken schon relativ frühzeitig auf den Magen-Darm-Trakt und äußern sich in blutigen Diarrhöen.

Im Zentralnervensystem führt 6-AN selbst bei hohen Dosen erst nach einer Latenzzeit von mehreren Stunden zu Vergiftungserscheinungen, deren auffallendstes Symptom eine fortschreitende Lähmung vorwiegend der hinteren Extremitäten ist; sie beginnt meist als schlaffe Lähmung und geht nach ca. einer Woche in Spastik über (COPER et al. 1966). Die Tiere sind apathisch und geräuschunempfindlich. Weitere zentralnervöse Funktionsstörungen äußern sich im Absinken der Körpertemperatur (NANNI et al. 1961; BRUNNEMANN u. COPER 1963) und in einer Verlängerung der Hexobarbitalnarkose (REDETZKI u. ALVAREZ-O'BOURKE 1962; HERKEN u. COPER 1963; COPER et al. 1966; COPER et al. 1968). Zahlreiche 6-AN-Wirkungen werden auch nach Applikation von Reserpin (DANDIYA et al. 1960) und Neuroleptica (DECOURT et al. 1953; BENITTE 1954; DASGUPTA et al. 1954; ZIPF u. ALTSTAEDTER 1954; FÄHNDRICH 1968) gefunden. Dazu gehören die Verlängerung der Hexobarbitalnarkose und die Erniedrigung der Körpertemperatur, die Diarrhöe und erhöhte Serumkonzentrationen von Corticosteron (v. HERRATH 1968).

Inwieweit diese übereinstimmenden Effekte von Reserpin, Neuroleptica und 6-AN auf den gleichen Funktionsstörungen im Zentralnervensystem beruhen, ist bisher nicht geklärt. Gemeinsam ist allen drei Substanzgruppen lediglich ihr hemmender Einfluß auf die Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in recht niedrigen Konzentrationen. Daher ist vermutet worden, daß Störungen im Pentosephosphatzyklus für die schlafverlängernde Wirkung und andere zentrale Störungen des 6-AN und der Neuroleptica verantwortlich sind (COPER 1966). Auffällig ist in diesem Zusammenhang, daß alle neurolepticaähnlichen 6-AN-Wirkungen reversibel sind, während die Lähmungen nach 6-AN sich nur unvollkommen zurückbilden. Sie entstehen durch morphologisch faßbare Störungen im Rückenmarksgrau, in dem, verglichen mit dem Hypothalamus, weitaus geringere Konzentrationen von 6-ANAD(P) vorhanden sind (STERNBERG u. PHILIPS 1958; WOLF u. COWEN 1959; WOLF u. GELLER 1962; SCHOTLAND et al. 1965; COPER et al. 1966). Diese Läsionen betreffen jedoch nicht, wie angenommen wurde, die Vorderhornzellen, sondern die Schaltneurone des reticulären Grau im Rückenmark und der Formatio reticularis im unteren Hirnstamm, wodurch die γ -Motoneurone deafferenziert werden (SCHNEIDER 1968).

Bis jetzt wurden die 6-AN-Wirkungen beinahe ausschließlich mit relativ hohen Dosen von 10 bis 100 mg/kg Körpergewicht untersucht. Dadurch ist das Vergiftungsbild sehr einförmig und eine Differenzierung der Effekte nach Zeit- und Dosiswirkung kaum möglich. Inwieweit die durch 6-AN bedingten Schädigungen reversibel sind, ließ sich ebenfalls nicht exakt feststellen, da die meisten Tiere unter den akuten Vergiftungssymptomen starben.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, den Einfluß des Antimetaboliten an sechs Parametern bei einmaliger und täglicher Gabe von vorwiegend niedrigen Dosen (bis 10 mg/kg Körpergewicht) zu prüfen und die Empfindlichkeit der einzelnen Funktionen gegenüber 6-AN sowie

die Reversibilität der durch die Substanz verursachten Schädigungen festzustellen. Untersucht werden die mit dem Urin ausgeschiedenen Mengen 6-AN in Abhängigkeit von Zeit und Dosis, das Körpergewicht, die Körpertemperatur, die Hexobarbitalnarkose, der Blutzucker und die Laufmotorik. In diesem Zusammenhang wird eine Untersuchungsmethode entwickelt, die es gestattet, im Tierversuch Störungen der Motorik durch 6-AN bereits zu einem Zeitpunkt nachzuweisen, in dem sie noch nicht augenfällig sind.

II. METHODIK

Die Versuche wurden an männlichen und weiblichen Wistar-ratten (Züchter: Tierzuchtfarm Hoffmann, Berlin) mit einem Körpergewicht zwischen 180 und 240 g durchgeführt. Sofern in den Versuchsanordnungen nichts anderes angegeben wird, erhielten die Tiere Trockenfutter "Altromin R 10" (der Firma Altrogge, Lage/Lippe) und Leitungswasser ad libitum. Das in den Versuchen verwandte 6-AN (F 238 - 240°C) lieferte die Firma Man Research Laboratories, New York. Es wurde in 0,9%iger NaCl-Lösung injiziert.

Die Wirkung des 6-AN auf Körpertemperatur, Hexobarbitalnarkose, Laufmotorik und Blutzucker wurde nach einmaliger und täglicher Gabe der Substanz an je 11 Versuchs- und Kontrollgruppen geprüft. Die Versuchsgruppen umfaßten 10 bis 30, die Kontrollgruppen 10 Tiere.

Bei einmaliger i.p.-Injektion erhielten die Ratten 6-AN in folgender Dosierung:

1. Versuchsgruppe	1 x 1	mg/kg Körpergewicht
2. "	1 x 2	" " "
3. "	1 x 5	" " "
4. "	1 x 10	" " "

Bei täglicher Injektion erhielten die Tiere folgende Dosen von 6-AN im Abstand von 24 Stunden i.p.:

5. Versuchsgruppe	1 x 1	mg/kg Körpergewicht
6. "	5 x 1	" " "
7. "	9 x 1	" " "
8. "	1 x 2	" " "
9. "	2 x 2	" " "
10. "	3 x 2	" " "
11. "	4 x 2	" " "

Abweichungen von diesem Schema sind in der jeweiligen Versuchsanordnung angegeben.

Den Versuchsgruppen 1 bis 11 entsprechen die Kontrollgruppen 1 bis 11, denen in gleichen zeitlichen Intervallen ebensooft wie den jeweiligen Versuchstieren NaCl-Lösungen i.p.

appliziert wurden (1 ml/100 g Tier).

An den aus den oben aufgeführten Versuchsgruppen überlebenden Tieren wurde nach 14 Tagen geprüft, inwieweit die durch 6-AN verursachten Effekte reversibel sind.

1. Bestimmung von 6-AN im Urin

6-AN wird nach i.p.-Applikation von der Ratte zu einem großen Teil unverändert mit dem Urin ausgeschieden. Nur ein geringer Teil der injizierten Substanz liegt im Urin als N-Methylderivat vor und wird durch das spektrofluorometrische Verfahren miterfaßt (NEUHOFF, unveröff. Manuskript; CHRIST, persönl. Mitteilung). Die in den Ergebnissen angegebenen Werte beziehen sich daher auf die Summe von 6-AN und N-Methyl-6-AN.

In einem Vorversuch wurde männlichen Ratten im Gewicht von 180 - 240 g 20 mg/kg 6-AN injiziert. Unmittelbar danach wurden die Tiere in Stoffwechselkäfige gesetzt, ihr Urin vom Kot getrennt über 24 Stunden fraktioniert gesammelt (nach 4, 8, 12 und 24 Stunden) und die ausgeschiedenen 6-AN-Mengen bestimmt. In diesem Versuch bekam jedes Tier nach 12 Stunden 6 ml H₂O durch eine Magensonde verabreicht. Die aus der Versuchsreihe gewonnene Ausscheidungskurve (ausgeschiedenes 6-AN in Abhängigkeit von der Zeit) ergab 12 Stunden als optimale Dauer für das Sammeln des Urins.

Im Hauptversuch erhielten männliche Wistarratten einmalige Dosen von 1 bis 100 mg/kg 6-AN (2 ml/kg Tier) und tägliche Gaben von je 1 bzw. 2 mg/kg 6-AN i.p. im Abstand von 24 Stunden. Das Sammeln des Urins erfolgte nach dem Verfahren des Vorversuchs während der optimalen Dauer von 12 Stunden. In dieser Zeit blieben die Tiere ohne weitere Flüssigkeitszufuhr. 12 Stunden nach den Einzelinjektionen, d.h. immer abends, wurden die Ratten aus den Stoffwechselkäfigen in ihre normalen Käfige zurückgesetzt und erhielten für 12 Stunden Trockenfutter und Wasser ad libitum.

Das ausgeschiedene 6-AN wurde spektrofluorometrisch bestimmt (HERKEN u. NEUHOFF 1964), wobei sich auch so geringe Mengen der Substanz, wie sie nach einer 1 mg/kg-i.p.-Injektion eliminiert werden, erfassen lassen. Der Reaktionsansatz enthielt 50 ml Sammelurin als Meßprobe, 0,2 ml 5n HCl und 2 ml H₂O viermal quarzdestilliert. Als Leerwert diente Urin unbehandelter Ratten. Pipettiert wurde jeweils mit einer 50 μ l Mikropipette, die aus Polyvinylchlorid selbst angefertigt und optisch geeicht wurde (MATTENHEIMER 1961). Die Messung erfolgte mit einem Aminco-Bowman-Spektrofluorometer gekoppelt an einen Moseley-Autografen im Maximum des Anregungsspektrums bei 310 m μ mit der optimalen Emission von 390 m μ .

Zur quantitativen Bestimmung des renal ausgeschiedenen 6-AN diente eine Eichkurve. Die Testlösung setzte sich zusammen aus wässrigen 6-AN-Lösungen verschiedener Konzentration, die durch Verdünnung einer $1,8 \cdot 10^{-3}$ M 6-AN-Lösung hergestellt wurden, und dem Urin unbehandelter Ratten mit einem Zusatz je einer bekannten 6-AN-Menge. Jeder Punkt auf der Eichkurve repräsentiert den Mittelwert aus 10 Einzelmessungen der entsprechenden Konzentration (Abb. 1).

Von 0,5 - 7,5 μ g 6-AN/Reaktionsansatz steigt die Intensität der Fluoreszenz linear an. In diesem Bereich stimmen die Werte der Fluoreszenz der reinen 6-AN-Lösung mit denjenigen des mit 6-AN versetzten Sammelurins annähernd überein. Nur im gradlinigen Verlauf der Eichkurve wurde gemessen. Enthielten Meßproben aus dem Sammelurin höhere oder niedrigere Konzentrationen von 6-AN, so wurde der Urin verdünnt bzw. eingeeengt, um eine Messung in diesem Bereich zu ermöglichen. Der Berechnung der ausgeschiedenen 6-AN-Menge lag der Mittelwert aus drei spektrofluorometrischen Bestimmungen zugrunde.

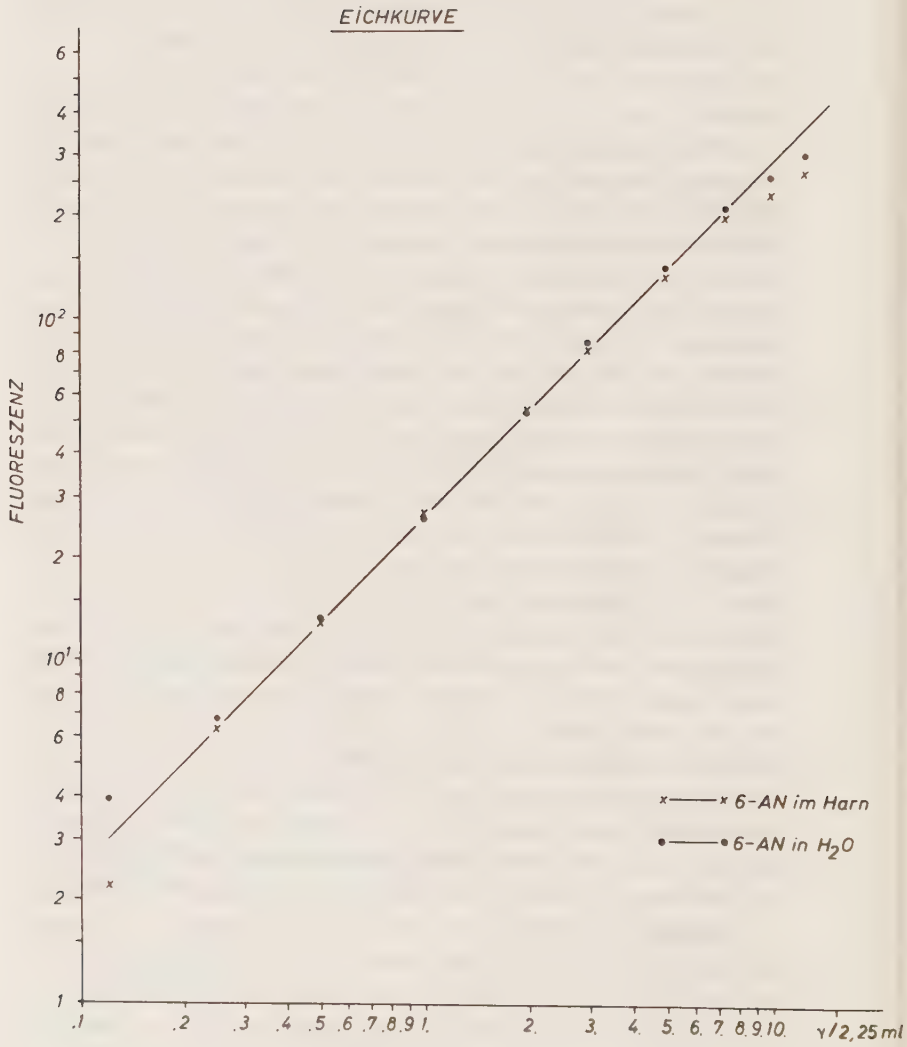


Abb. 1

2. Bestimmung von Körpergewicht und Körpertemperatur

a) Körpergewicht

Als Versuchstiere dienten weibliche Albinoratten im Gewicht von 170 - 190 g, die pro Tag 6-AN-Gaben von 1 bzw. 2 mg/kg i.p. appliziert erhielten. Die Veränderungen im Körpergewicht der Tiere wurden täglich registriert. Den Kontrolltieren wurde ebenso oft 0,9 %ige NaCl-Lösung verabfolgt. Parallel dazu wurde die Gewichtsabnahme bei hungernden Ratten an einer Gruppe von 10 Tieren festgestellt.

b) Körpertemperatur

Die Versuche wurden an weiblichen Albinoratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 210 ± 30 g durchgeführt, da bei Tieren unter 150 g die Thermoregulation noch labil ist (ANKERMANN 1958). Um zu verhindern, daß gegenseitige Berührung und Verdeckung den Wärmeverlust mindern (THAUER 1943), wurden in einem Käfig jeweils nur fünf Ratten gehalten.

Im akuten Versuch erhielten die Tiere 1 - 10 mg/kg 6-AN i.p., im chronischen Versuch je 1 bzw. 2 mg/kg bis zu einer Gesamtdosis von 8 bzw. 9 mg/kg 6-AN i.p. verabreicht (Versuchsgruppen s. S. 8). 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Körpertemperaturen rektal zwei- bis dreimal gemessen. Ein Quecksilberthermometer wurde stets 30 mm tief eingeführt, um Fehler in der Messung aufgrund unterschiedlicher Tiefe auszuschalten. Das Ablesen der Temperatur erfolgte regelmäßig nach 120 Sekunden; diese Zeit war durch Eichmessung bei Wassertemperaturen zwischen 25° und 40° C für das benutzte Thermometer als ausreichend ermittelt worden.

Um die Reaktion der mit 6-AN vergifteten Tiere bei verschiedenen Ausgangsbelastungen studieren zu können, wurden die Messungen zuerst bei 22° C und anschließend

- nach jeweils zweistündigem Aufenthalt - in 4° und 39° C Umgebungstemperatur vorgenommen. Zwischen dem Aufenthalt bei 4° C und dem bei 39° C erholten sich die Tiere eine Stunde lang bei einer Raumtemperatur von 22° C. Nach 14 Tagen wurden die Temperaturmessungen ohne vorherige 6-AN-Applikation wiederholt.

3. Bestimmung der Hexobarbitalnarkose

Ratten im Gewicht von 160 - 220 g wurden mit folgenden 6-AN-Dosen vorbehandelt: im akuten Versuch erhielten jeweils 10 Tiere 5, 10, 20, 50 und 100 mg/kg 6-AN i.p., im chronischen Versuch 5 x 1 mg/kg, 9 x 1 mg/kg, 2 x 2 mg/kg, 3 x 2 mg/kg und 4 x 2 mg/kg 6-AN i.p. injiziert. Die Kontrolltiere bekamen 0,9 %ige NaCl-Lösung in gleicher Häufigkeit verabreicht. 24 Stunden nach der letzten 6-AN-Applikation erfolgte bei allen Tieren die Injektion von 100 mg/kg Hexobarbital. Anschließend wurde die Narkosedauer bestimmt, wobei als "Schlafzeit" die Zeitspanne zwischen der Hexobarbitalzufuhr und dem Wiederauftreten der Stellreflexe galt, die Tiere sich also innerhalb einer Minute dreimal aus der unphysiologischen Rückenlage in Bauchlage drehten.

Da die Umgebungstemperatur nicht ohne Einfluß auf die Körpertemperatur ist (RAVENTOS 1938), wurden die Versuche, die den Zusammenhang zwischen Körpertemperatur und Narkosedauer klären sollten, jeweils bei 15°, 22° und 31° C Umgebungstemperatur an den einzelnen Gruppen von 10 Tieren, die 10 bzw. 20, 50 und 100 mg/kg erhalten hatten, durchgeführt.

Außer der Narkosedauer wurde hier die Rektaltemperatur der Tiere, wie oben beschrieben, nach einer Anpassungszeit von drei Stunden, vor Beginn des Versuches und 6, 12, 18, 24 Stunden nach der 6-AN-Injektion, eine halbe Stunde nach der Hexobarbitalgabe und beim Aufwachen gemessen.

Nach 14 Tagen wurde bei den überlebenden Tieren erneut die

Narkosedauer bestimmt, um die Reversibilität des narkoseverlängernden Effektes von 6-AN zu prüfen.

4. Messung der Laufmotorik

In Anlehnung an die Versuchsanordnung von KHAIRY (1959), HAIDER et al. (1962) und RUSHTON et al. (1963) wurde auf die Hinterpfoten von Ratten mit einem Wattetupfer schwarze Stempelfarbe so aufgetragen, daß nur die Ballen der Pfötchen gefärbt waren. Anschließend wurden die Tiere vor einen Tunnel gesetzt, den sie spontan durchliefen. Dieser Tunnel war aus Aluminiumblech gebogen und hatte folgende Ausmaße: Länge 110 cm, Breite 12 cm, Höhe 10 cm. Nach einer Anfangsstrecke von 27 cm ohne Deckenöffnung waren im Abstand von 5,5 cm in die Decke des Tunnels Löcher mit einem Durchmesser von 1,5 cm gebohrt, um das Verhalten der Tiere kontrollieren zu können. Der Boden des Tunnels war mit einem 14 cm breiten Papierstreifen so ausgelegt, daß er die Tunneleingänge auf beiden Seiten um ca. 20 cm überragte. Auf diesem Papierstreifen markierten sich die angefärbten Hinterpfoten der Ratten. Jeweils nach dem Durchlauf eines Tieres wurde die Papierunterlage ausgewechselt.

Die Laufversuche wurden bei gleichbleibender Beleuchtung und konstanter Temperatur, die nicht über 22° C liegen sollte, durchgeführt, da sonst die Aktivität der Ratten eingeschränkt war.

In Vorversuchen wurden unter den oben beschriebenen Bedingungen unbehandelte Tiere durch den Tunnel geschickt. Dabei wurden jene Tiere eliminiert, die nicht zügig durch den Tunnel liefen, sondern stehen blieben, sich umdrehten oder aufrichteten. Ihre Spuren konnten nicht verwertet werden. Außerdem zeigte sich, daß Tiere, die bereits im Vorversuch "schlechte Läufer" gewesen waren, auch in den weiteren Versuchen "schlechte Läufer" blieben.

Für die Bestimmung der Spurenbreite wurden zwei Linien ge-

zogen. Die Mitte zwischen dem Abdruck des zweiten und dritten Interdigitalballens einer hinteren Rattenpfote, z.B. der rechten Hinterpfote, wurde mit dem gleichen Punkt des nächstfolgenden Abdrucks verbunden und auf die so entstehende Gerade vom Meßpunkt des gegenüberliegenden Abdrucks der linken Hinterpfote das Lot gefällt. Die Länge dieses Lotes gab die Breite der Spur an (Abb. 2). Ihr Mittelwert tendierte bei einer genügend großen Anzahl von Versuchstieren gleicher Größe (160 - 180 g) gegen 30 mm. Dieser Zahlenwert wird auch von RUSHTON et al. angegeben.

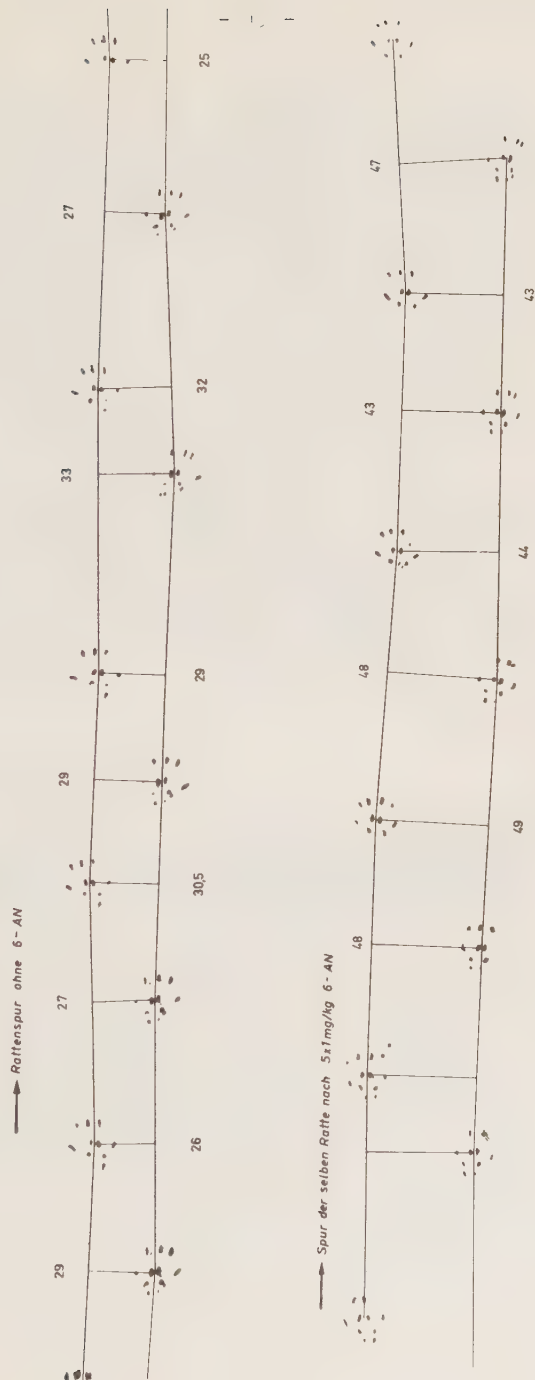
Die Messung begann erst beim zweiten Abdruck der Hinterpfoten, um Verzerrungen durch den Start auszuschalten. Blieb ein Tier im Tunnel stehen, so wurden die betreffenden Abdrücke des Tieres im Stand nicht verwertet. Es mußten mindestens 10 Spurenabdrücke von jeder Ratte zur Messung vorliegen. Reichte ein Durchlauf hierfür nicht aus, so war der Versuch mit demselben Tier zu wiederholen. Kamen nach drei Laufversuchen nicht wenigstens insgesamt 10 verwertbare Spurenabdrücke zustande, wurde das Tier für die Auswertung nicht verwendet.

Die Feststellung der Reliabilität des Tests erfolgte, indem der Stabilitätskoeffizient hinsichtlich der Zeit untersucht wurde. Die Spurenbreite unbehandelter weiblicher Ratten mit einem Gewicht von 160 - 180 g wurde durch zwei Läufe im Abstand von einer Woche bestimmt. Abb. 3 zeigt die Ergebnisse von 100 Tieren. Alle Tiere waren gekennzeichnet, so daß die gemessene Spurenbreite im ersten Lauf (in der Abbildung = x-Wert) zu der Spurenbreite im zweiten Lauf (in der Abbildung = y-Wert) in Beziehung gesetzt werden konnte. Jedes so erhaltene Wertepaar ist in Abb. 3 durch einen Punkt wiedergegeben.

Die Darstellung zeigt, daß Tiere mit einer kleinen Spur im ersten Durchlauf beim zweiten Durchlauf ebenfalls eine geringe Spurenbreite aufweisen. Es besteht aber keine strenge Abhängigkeit zwischen diesen beiden Variablen. Daher

Abb. 2

Originalspur einer Ratte vor und nach der Behandlung mit 6-AN



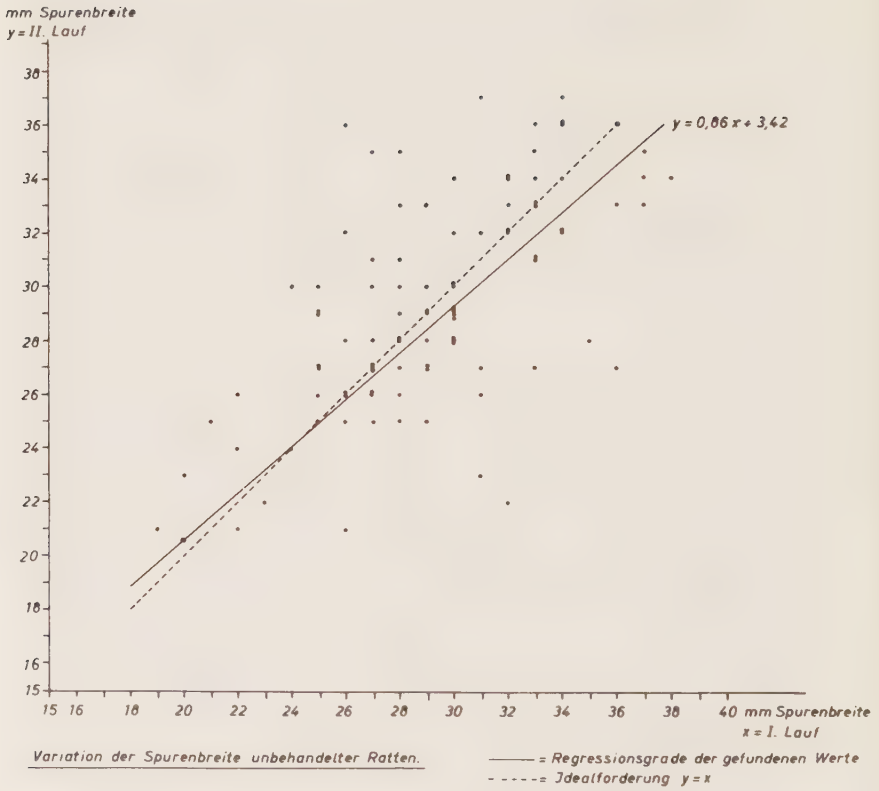


Abb. 3

wurde die Regressionsgerade und der Regressionskoeffizient der Regression von y auf x berechnet. Mit einer Steigung von $\text{tg}\alpha = 0,86$ kommt der Regressionskoeffizient der Idealforderung nach einer Steigung von $\text{tg}\alpha = 1,0$ sehr nahe. Die Verteilungen der Variantenreihen sind normal, und Extremwerte treten nur in geringer Zahl auf. Der Korrelationskoeffizient ist mit einem Wert von 0,91 dementsprechend hoch.

Bei den Versuchstieren handelte es sich um weibliche Ratten mit einem Gewicht von 160 - 180 g. Alle im Hauptversuch benutzten Tiere hatten sich im Vorversuch als "gute Läufer" qualifiziert (Gruppeneinteilung s. S. 8).

24 Stunden vor der (ersten) Injektion und 24 Stunden bzw. 14 Tage nach der (letzten) Injektion wurde bei allen Gruppen im Spurentest die Spurenbreite der Ratten bestimmt. Die Messung der Spuren vor und nach der Behandlung ermöglichte den Vergleich der von einem jeden Tier erhaltenen Mittelwerte miteinander.

5. Bestimmung der Glucose im Blut

Wistarratten im Gewicht von 180 - 220 g wurden mit einmaligen Gaben von 5, 10, 20 und 50 mg/kg 6-AN und täglichen Gaben von 1 bzw. 2 mg/kg 6-AN behandelt und jeweils sechs Stunden nach der letzten Injektion der Blutzucker bestimmt. Für die Gruppeneinteilung gilt die Aufstellung auf S. 8; lediglich die Versuche mit 1 x 1 mg/kg und 1 x 2 mg/kg 6-AN wurden hier nicht durchgeführt.

Nach Blutentnahme durch Dekapitation wurde die Glucose in Anlehnung an das von HUGGETT u. NIXON (1957) entwickelte Verfahren (Testkombination C.F.Boehringer u. Söhne, Mannheim) mit Glucoseoxydase ermittelt.

6. Statistische Auswertung

Die Darstellung der Meßergebnisse erfolgte durch den Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung der Einzelwerte s_x .

1. Signifikanzberechnungen

Da die Voraussetzungen für den t-Test nach STUDENT gegeben waren, wurde t in zweiseitiger Fragestellung nach folgenden Formeln berechnet:

a) Vergleich von zwei Versuchssreihen

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2 \cdot N_1 \cdot N_2}{s_1^2 \cdot N_2 + s_2^2 \cdot N_1} \quad FG = N_1 + N_2 - 2$$

b) Vergleich von Meßpaaren

$$t = \frac{d}{s_d} \quad FG = N - 1$$

Der zu den berechneten t-Werten gehörende p-Wert wurde aus der in den WISSENSCHAFTLICHEN TABELLEN (DOKUMENTA GEIGY) befindlichen t-Tafel entnommen.

Es wurden signifikante Unterschiede zwischen zwei Meßreihen angenommen, wenn die Wahrscheinlichkeit p 0,0027 war.

2. Berechnung der Regressionsgeraden

$$Y = \bar{y} + b (x - \bar{x}) \quad \text{wobei} \quad b = \frac{S_{xy} - \frac{S_y \cdot S_x}{N}}{S_x^2 - \frac{S_x^2}{N}}$$

3. Berechnung des Korrelationskoeffizienten

$$r = \frac{S(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{(N - 1)s_x : s_y} \quad \text{oder} \quad r = b \cdot \frac{s_x}{s_y}$$

x = Einzelwerte $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel der x

y = Einzelwerte $\bar{y}$ = arithmetisches Mittel der y

S = Summe S_x^2 = Summe der Quadrate der Einzelwerte

N = Anzahl der Einzelwerte

s = Standardabweichung der Einzelwerte

$\bar{d}$ = Mittelwert der Einzeldifferenzen

$s_{\bar{d}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes

X = unabhängige Variable Y = abhängige Variable

III. ERGEBNISSE

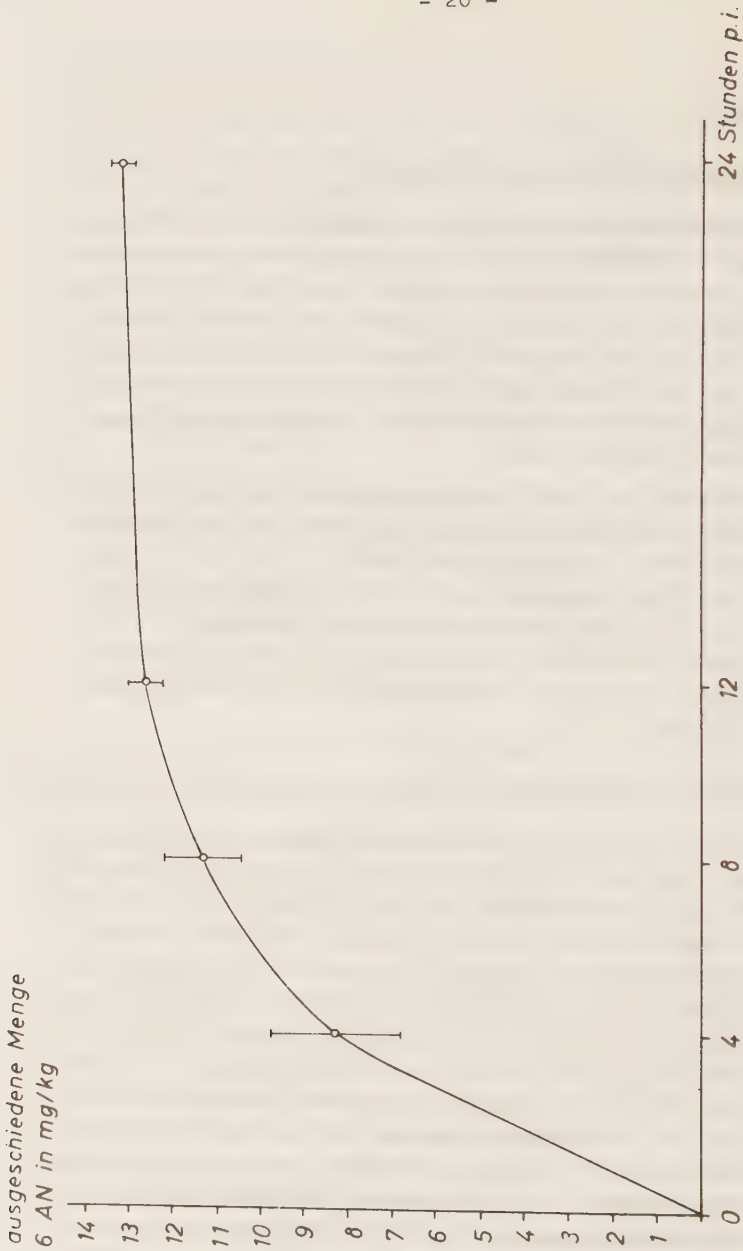
1. Ausscheidung von 6-AN mit dem Urin

Die Bestimmung der mit dem Urin eliminierten 6-AN-Mengen spiegelt natürlich nicht die Konzentration der Wirkstoffe 6-AN, 6-ANAD(P) am Wirkort wieder. Eine derartige Aussage ist bei der Vielzahl der Versuchsreihen nur mit erheblichem technischen Aufwand mit markiertem 6-AN und auch dann nur als Summenangabe möglich. Mit den hier beschriebenen Untersuchungen könnten aber möglicherweise folgende Fragen geklärt werden:

- (1) Besteht ein zeitlicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten einiger Vergiftungssymptome und der Ausscheidung bzw. Retention von 6-AN?
- (2) Läßt sich zwischen injiziertem und ausgeschiedenem 6-AN eine Dosiswirkungsbeziehung nachweisen?
- (3) Kumuliert 6-AN im Organismus des Tieres bei wiederholten Dosen von 1 bzw 2 mg/kg in 24-Stunden-Intervallen?

a) Renale Ausscheidung von 6-AN in Abhängigkeit von der Zeit

Wie Abb. 4 zeigt, wird 6-AN nach einer Exponentialfunktion mit dem Urin ausgeschieden. Von den applizierten 20 mg/kg 6-AN enthält der Urin in den ersten vier Stunden bereits 40 % von der unveränderten bzw. N-methylierten Substanz. Nach 12 Stunden sind insgesamt 64 % ausgeschieden, in weiteren 12 Stunden werden nur noch knapp 2 % eliminiert (Tabelle 3). Vorausgesetzt, daß 6-AN nur als freies 6-AN und N-Methylderivat und nur über die Nieren ausgeschieden wird, befindet sich also nach 24 Stunden noch etwa ein Drittel des zugeführten 6-AN - sei es in freier Form oder in den Pyridinnucleotiden gebunden - im Organismus. Bei täglichen Injektionen kleiner Dosen im 24-Stunden-Intervall ist daher eine Kumulation zu erwarten. Aus diesem Ausscheidungsmodus



Ausscheidung von 6-AN im Urin nach 20 mg/kg 6-AN i.p. in Abhängigkeit von der Zeit

ist aber auch zu entnehmen, daß Effekte, die sich innerhalb der ersten 12 Stunden wieder zurückbilden, wie die vermehrte Diurese, die gesteigerte Natriumelimination (HERKEN et al. 1964; WIEDERHOLT et al. 1968) und in gewisser Weise auch die Hyperglykämie (SCHULTZ et al. 1966; v. BRUCHHAUSEN 1965) wahrscheinlich durch das freie 6-AN verursacht sind. Denn es ist schwer zu erklären, daß mehrere verschiedenartige Effekte verschwinden, obwohl eine noch wirksame Konzentration an 6-ANAD(P) über eine weit längere Zeit nachweisbar ist. Außerdem ist bekannt, daß auch Nicotinsäure und Nicotinamid zumindest den Blutzucker beeinflussen (KLEBER u. MANTHEI 1961; ROOT u. ASHMORE 1964).

b) Renale Ausscheidung von 6-AN in Abhängigkeit von der Dosis

aa) nach einmaliger Gabe

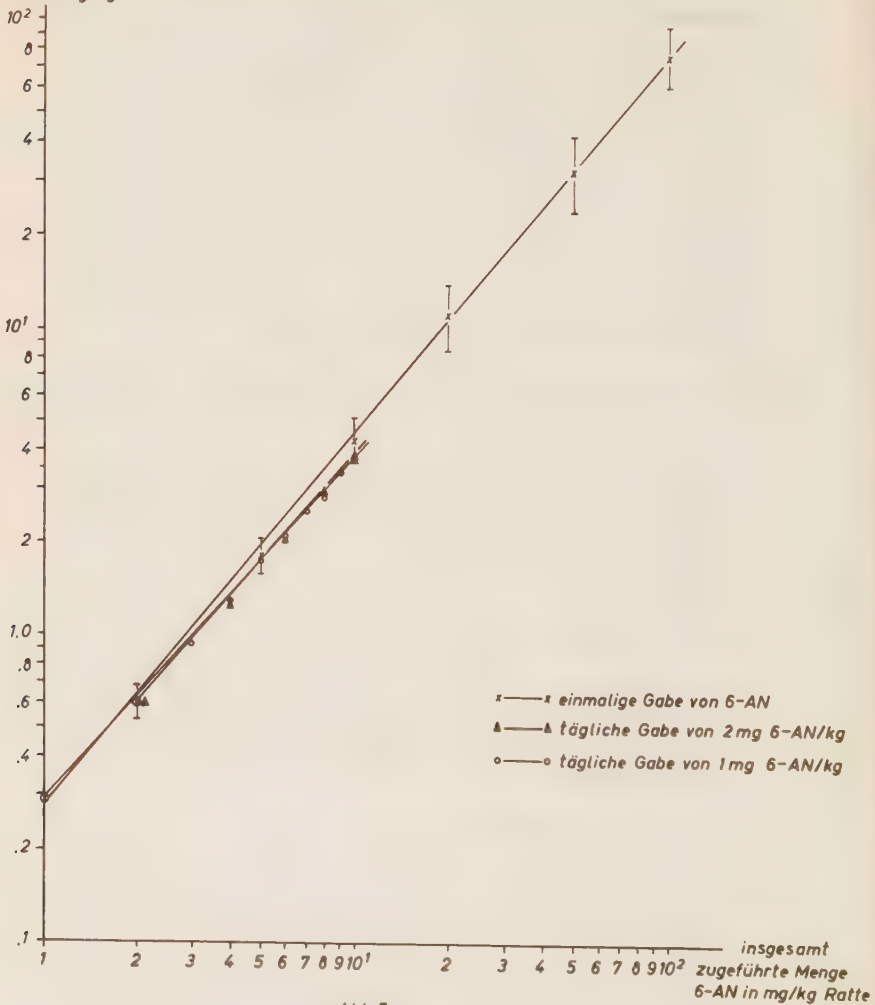
Gestützt auf die Zeit-Eliminationskurve wurde der Urin nur über einen Zeitraum von 12 Stunden gesammelt. Die Ausscheidung des 6-AN mit dem Urin ist entsprechend dem Vorgehen bei der Dosierung in mg/kg Körpergewicht berechnet, wobei als Punkt der Kurve jeweils das arithmetische Mittel aus Versuchen an mindestens 20 Tieren erscheint (Abb. 5). Das so entstehende Schaubild verdeutlicht, daß die Ausscheidung nach einmaliger Applikation von 6-AN einer Dosiswirkungsbeziehung folgt.

bb) nach täglicher Gabe

Die Ergebnisse im chronischen Versuch an je 10 Tieren sind als Summationskurve in mg/kg Körpergewicht ausgeschiedener 6-AN-Mengen dargestellt (Abb. 5). Nach täglicher Verabreichung von 1 mg bzw. 2 mg/kg 6-AN im 24-StundenRhythmus erscheint nach 12 Stunden fast ebensoviel 6-AN im Urin wie nach einmaliger Gabe. Bei einer Gesamtzufuhr von 10 mg/kg ergibt sich für das eliminierte 6-AN nach diesen bei-

Ausscheidung von 6-AN im Urin nach einmaliger und täglicher 6-AN-Gabe
(Sammelurin über 12 Std. p.i.)

ausgeschiedene Menge
6-AN in mg/kg



den Applikationsformen ein $p > 0,04$. Infolge der kumulativen Wirkung nach täglicher Gabe kleiner 6-AN-Dosen wird demnach die gleiche Menge ausgeschieden bzw. im Organismus gespeichert wie nach einmaliger Gabe.

Von diesem Ergebnis ausgehend war weiter zu prüfen, ob die fraktionierte Verabreichung von 6-AN zu quantitativ anderen Wirkungen auf die hier interessierenden Parameter (Körpergewicht, Körpertemperatur, Hexobarbitalnarkose, Laufmotorik und Blutzucker) führt als die Injektion der entsprechenden Einzeldosis und bei welcher Dosis die Wirkungsschwellen liegen.

2. Einfluß von 6-AN auf das Körpergewicht

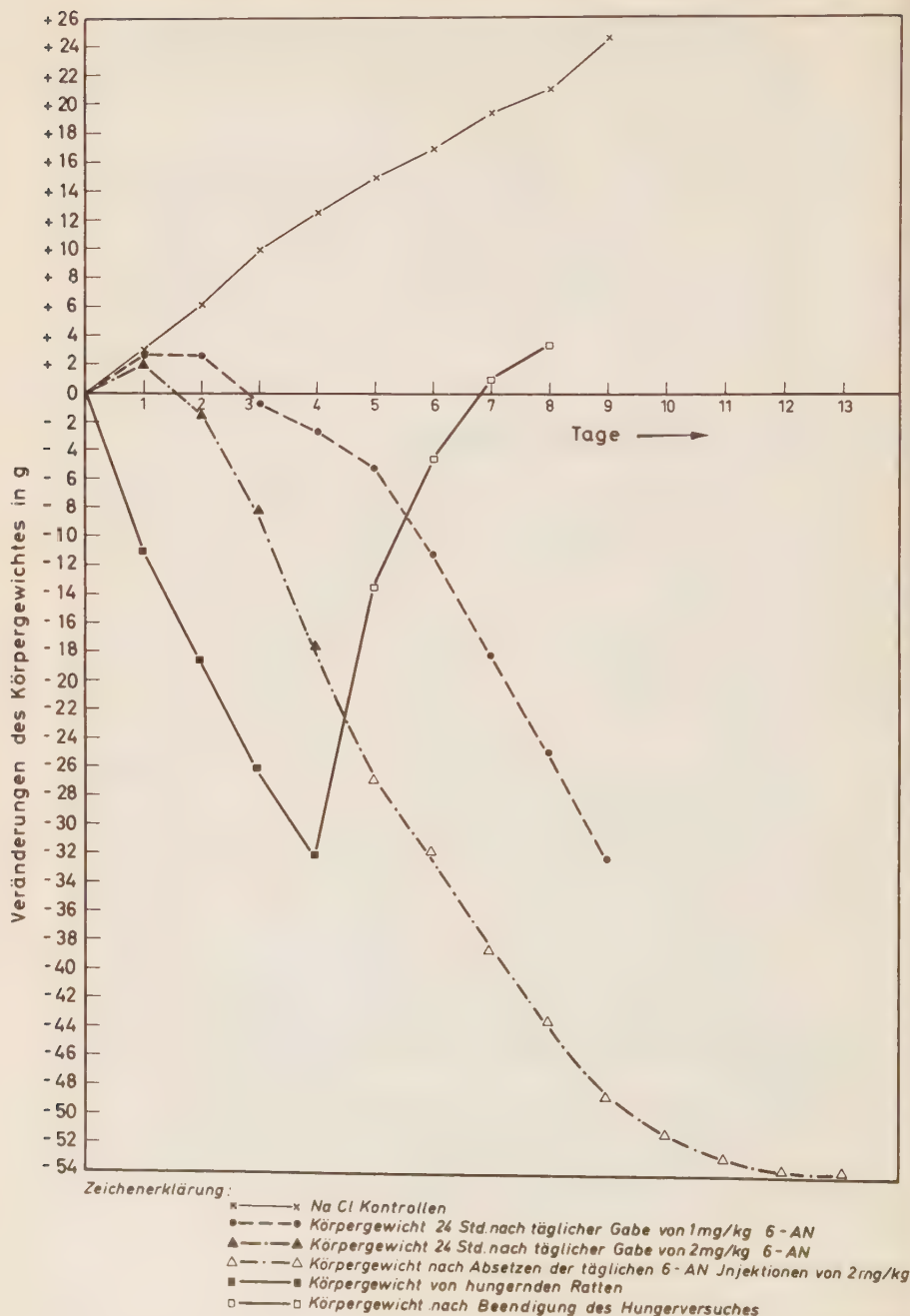
Werden Ratten täglich Dosen von 1 bzw. 2 mg/kg 6-AN injiziert, so nimmt ihr Körpergewicht ab (NANNI et al. 1961). Abb. 5a zeigt, daß die NaCl-Kontrollen pro Tag um 2,5 g schwerer werden. Tiere, die täglich 1 mg/kg 6-AN erhalten, nehmen nach der ersten Injektion etwa ebensoviel zu. Der Gewichtsverlust in den folgenden Tagen beträgt zunächst 2,5 g/Tag, ist bereits nach drei Tagen gegenüber den Kontrollen signifikant ($p < 0,002$; Tabelle 5) und liegt nach fünf Tagen in der Größenordnung hungriger Tiere, die in vier Tagen 32 g abnehmen.

Nach täglicher Gabe von 2 mg/kg 6-AN tritt die Gewichtsabnahme entsprechend früher auf (Abb. 5a).

Während die hungernden Tiere nach Nahrungszufuhr sofort erheblich zunehmen und innerhalb weniger Tage ihr Ausgangsgewicht erreichen, verlieren die mit 6-AN vergifteten Ratten auch nach Beendigung der Behandlung 5 bis 7 g/Tag an Gewicht, obwohl sie in der Lage sind, das Futter zu erreichen. Erst allmählich geht die Gewichtsabnahme zurück und ist 10 Tage nach der letzten Injektion nicht mehr nachweisbar. In den folgenden Tagen steigt das Körpergewicht der überlebenden Tiere wieder an (Tab. 5).

Gastrointestinale Störungen als Ursache für die reduzierte Nahrungsaufnahme konnten nicht beobachtet werden. Es darf daher ein hemmender reversibler Einfluß des 6-AN auf das im Hypothalamus gelegene Appetitzentrum angenommen werden.

Einfluß von 6-AN und Hunger auf das Körpergewicht bei Ratten



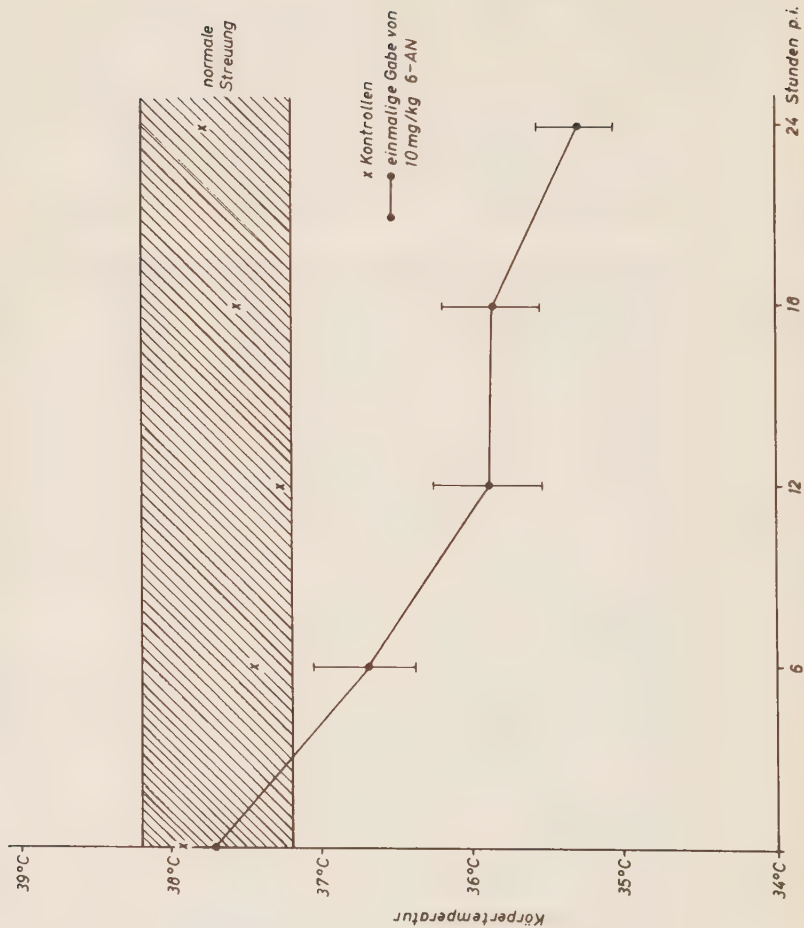
3. Körpertemperatur unter dem Einfluß von 6-AN

In diesen Versuchen wurden die Zeitwirkungsbeziehung hinsichtlich der durch 6-AN hervorgerufenen Hypothermie untersucht, die Schwellendosis ermittelt und die Reversibilität der durch 6-AN bewirkten Temperaturregulationsstörung geprüft. Außerdem war zu klären, ob diese Substanz Einfluß hat auf die Fähigkeit, die Körpertemperatur bei Wärme herabzusetzen. Nebenbei wurde die Wirkung der Umgebungstemperatur auf die Toxizität von 6-AN untersucht.

Eine einmalige Applikation von 10 mg/kg 6-AN beeinflusst bei einer Umgebungstemperatur von 22° C frühzeitig die Körpertemperatur (Abb. 6). Ohne äußere Anzeichen von Frieren wie Kältezittern oder Piloarektion sinkt die Rektaltemperatur der Ratten kontinuierlich ab und ist sechs Stunden nach der Injektion gegenüber den Kontrolltieren bereits signifikant erniedrigt ($p < 0,001$). Ihr Maximum erreicht die durch 6-AN bedingte Hypothermie bei dieser Dosierung nach 12 Stunden, um dann einige Tage auf diesem Niveau zu bleiben. Erst allmählich steigt die Körpertemperatur der Ratten wieder an und erlangt 14 Tage p.i. den Ausgangswert (Tabelle 6) (COPER et al. 1966).

Zur Ermittlung der Schwellendosis für die Temperaturerniedrigung erhielten die Tiere einmalige und tägliche Gaben von 6-AN zwischen 1 und 10 mg/kg (Gruppeneinteilung s. S. 8). Entsprechend der festgestellten Zeitwirkungsbeziehung wurde die Temperatur 24 Stunden nach erfolgter Injektion gemessen. Die Ergebnisse bei unterschiedlichen Umgebungstemperaturen von 4°, 22° und 39° C sind in Abb. 7 dargestellt. Eine Wärmebelastung der mit einer Gesamtdosis von 10 mg/kg 6-AN vergifteten Ratten durch zweistündigen Aufenthalt in 39° C scheint das Kühlzentrum nicht zu beeinflussen. Die gemessenen Rektaltemperaturen liegen alle im Bereich der normalen Streuung. Die Tiere selbst zeigen Hecheln, Polypnoe und Salivation, so daß ihr Brustfell in gleicher Weise wie bei den Kontrolltieren durchnäßt ist.

Der Einfluß von 10mg/kg 6-AN auf die Körpertemperatur der Ratte
Zeit - Wirkungsbeziehung (Umgebungstemperatur 22°C)



Einfluß von 6-AN nach einmaliger und täglicher Gabe auf die Körpertemperatur bei unterschiedlicher Umgebungstemperatur (24 Stunden p.i.)

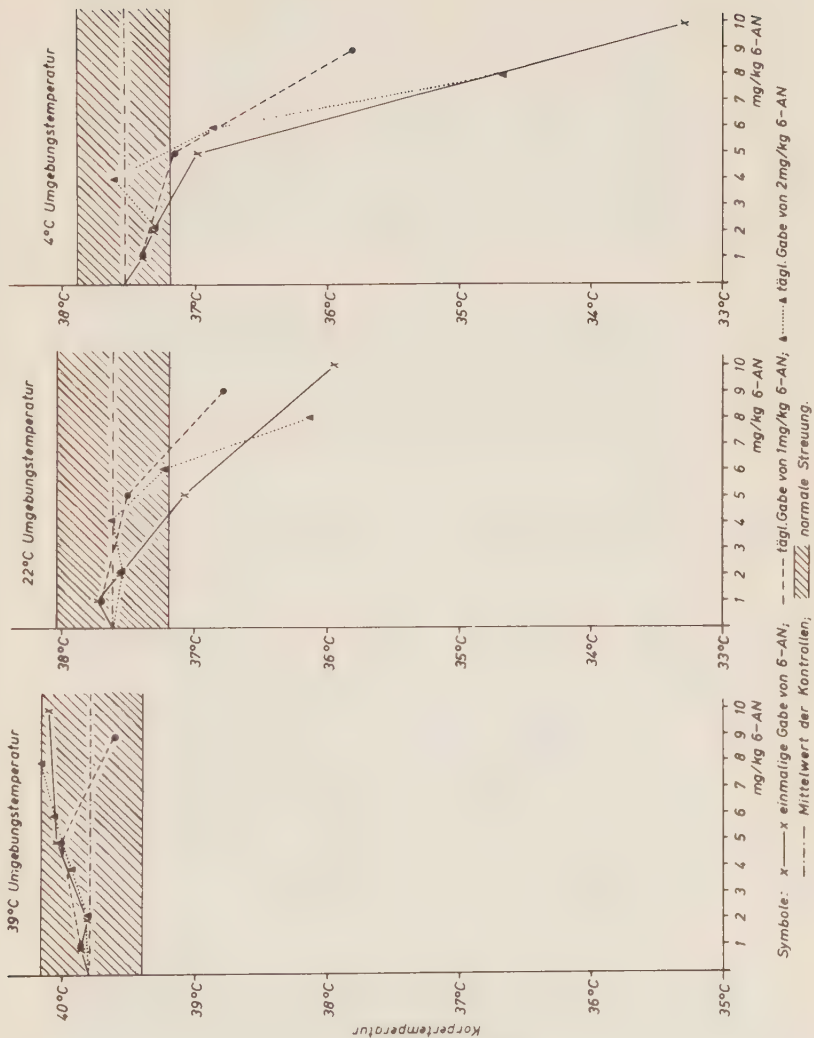


Abb 7

Dagegen haben bereits 5 mg/kg 6-AN bei der gewohnten Umgebungstemperatur von 22° C einen deutlichen, aber noch nicht signifikanten Effekt auf die Körpertemperatur. Die Hypothermie ist erst bei einer Gesamtdosis von ca. 6 mg/kg 6-AN signifikant ($p < 0,001$; s. Tabelle 6); sie prägt sich nach einem einstündigen Aufenthalt bei 4° C stärker aus und läßt sich bei dieser Raumtemperatur mit etwas niedrigeren Dosen erzeugen. Die behandelten Tiere zeigen auffallendes Kältezittern und Piloarektion. Sie suchen durch Zusammenkauern, also einer Verminderung der Körperoberfläche, die Wärmeabgabe zu verringern.

Als Ergebnis der Versuche, die den Einfluß von 6-AN auf die Körpertemperatur prüfen sollten, ist demnach festzuhalten, daß diese Substanz offenbar nur den physiologischen Regulationsmechanismus gegen Abkühlung reversibel beeinträchtigt (Tabelle 6), während derjenige gegen Überhitzung unbeeinflußt bleibt.

Einfluß der Umgebungstemperatur auf das Vergiftungsbild von 6-AN bei Ratten

Die Wirkung von Pharmaka läßt sich bei Warmblütlern (FARRIS u. GRIFFITH 1949) und in ganz besonderem Maße bei kleinen Nagern (USINGER 1957; FUHRMAN, G.J. u. F.A. FUHRMAN 1961) durch die Umgebungstemperatur erheblich beeinflussen. Um diesen Zusammenhang für 6-AN herauszuarbeiten, wurden je 4 Versuchsgruppen und eine Kontrollgruppe von 10 Ratten gebildet, die nach einer dreistündigen Anpassungszeit in 15° bzw. 22° und 31° C Umgebungstemperatur 6-AN in Dosen von 10, 20, 50 und 100 mg/kg i.p. appliziert erhielten und 24 Stunden beobachtet wurden.

Bei 22° C Raumtemperatur wird nach ca. sechs Stunden die bekannte 6-AN-Vergiftungssymptomatik sichtbar; demgegenüber lassen sich bei den Tieren in 15° C Umgebungstemperatur weder Diarrhöen noch schlaffe Lähmungen beobachten; lediglich drei Tiere (von insgesamt 40 Ratten) zeigen Blepharitis. In diesen beiden Versuchsreihen (bei 15° und 22° C

Umgebungstemperatur) starb innerhalb der Beobachtungszeit nur je ein Tier.

Einen ausgesprochen stürmischen Verlauf nehmen die Vergiftungen bei den unter 31° C angesetzten Versuchsgruppen. Sechs Stunden nach der 6-AN-Applikation befinden sich alle Tiere, die 20 mg/kg und mehr erhalten haben, in Seitenlage, sie sind verstärkt apathisch, polypnoeisch und weisen eine profuse Salivation auf; die Augenbulbi treten hervor. Außerdem haben alle eine blutige DiarrhÖe und Blepharitis. 12 Stunden p.i. sind Rollkrämpfe, Roll- und Streckkrämpfe sowie konvulsive Zuckungen zu beobachten.

Da dieses Experiment für alle Tiere, die mehr als 10 mg/kg 6-AN erhalten hatten, innerhalb von 36 Stunden mit dem Tod endete, ist eine Verlaufsuntersuchung nicht möglich; es ist daher auch schwierig zu unterscheiden, ob die Ratten bei einer erhöhten Umgebungstemperatur gegen 6-AN empfindlicher sind oder ob die Substanz die Empfindlichkeit des Tieres gegenüber Wärme steigert. Wahrscheinlich werden aber unter diesen Bedingungen Resorption, Diffusion, Verteilung und der Stoffwechsel des 6-AN verändert.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß die erhöhte Sterberate der Ratten (innerhalb von 24 Stunden waren nach 20 mg/kg acht Tiere, nach 50 bzw. 100 mg/kg jeweils neun Tiere tot) und die Rollkrämpfe (bzw. Roll- und Streckkrämpfe sowie konvulsive Zuckungen) bei 31° C Umgebungstemperatur zu einem Zeitpunkt auftreten, in dem das injizierte 6-AN schon zum größten Teil ausgeschieden ist und die höchsten Konzentrationen an synthetisierten Analogen u.a. im Gehirn gefunden werden (COPER et al. 1966).

4. Einfluß des 6-AN auf die Dauer der Hexobarbitalnarkose

Diese Experimente zielten darauf ab zu klären, ob sich eine Dosiswirkungsbeziehung hinsichtlich der Narkosedau-

er nachweisen, der festgestellte Einfluß der Substanz auf die Hexobarbitalnarkose mit niedrigen einmaligen und täglichen Gaben erzeugen läßt und inwieweit die Verlängerung der Narkose auf das - vom 6-AN bewirkte - Sinken der Körpertemperatur zurückgeführt werden kann; außerdem wird die Reversibilität des narkoseverlängernden Effektes von 6-AN geprüft.

Im akuten Versuch wurden 24 Stunden nach einer einmaligen i.p.-Injektion von 2, 5, 10, 20, 50 100 mg/kg 6-AN 100 mg/kg Hexobarbital gegeben und anschließend die Narkosedauer bestimmt. Abb. 8 zeigt die Ergebnisse bei einer Umgebungstemperatur von 15° und 22° C. Danach verlängert sich die Narkose bei Ratten in Abhängigkeit von der vorher verabreichten Menge an 6-AN im Sinne einer Dosiswirkungsbeziehung. Bei 15° C Raumtemperatur ist die durch 6-AN bedingte Hypothermie ausgeprägter als bei 22° C. Der steilere Verlauf der Kurve bei 15° C Umgebungstemperatur könnte daher ein Effekt der - infolge der niedrigeren Raumtemperatur - gesunkenen Körpertemperatur auf die Länge der Narkose sein. (Vgl. dazu die Untersuchungen über den Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Hexobarbitalnarkose bei Mäusen und Ratten: RAVENTOS 1938; BORZELLECA u. MANTHEI 1957; WINNE 1964)

Zwischen den beiden Versuchsreihen bei 15° und 22° besteht jedoch - außer bei Dosen von 50 und 100 mg/kg - kein statistisch zu sichernder Unterschied, da die Narkosedauer der einzelnen Tiere erheblich streut. (Tabelle 7).

14 Tage nach der 6-AN-Gabe ist kein narkoseverlängernder Effekt mehr vorhanden. Aus diesem Grunde war es von Interesse zu prüfen, wie sich eine Vorbehandlung mit täglichen niedrigen Dosen von 6-AN auf die Dauer der Hexobarbitalnarkose auswirkt. Wie in Abb. 8 dargestellt, ist nach Mengen von 2 x 2 mg/kg 6-AN noch kein Einfluß auf die Narkosezeit vorhanden. Dagegen schlafen Ratten, denen 24 Stunden vor der Hexobarbitalgabe insgesamt 5 mg/kg 6-AN injiziert worden ist, signifikant länger ($p < 0,002$)

Dauer der Hexobarbitalnarkose nach einmaliger und täglicher Gabe von 6-AN
24 Stunden nach der letzten Applikation.

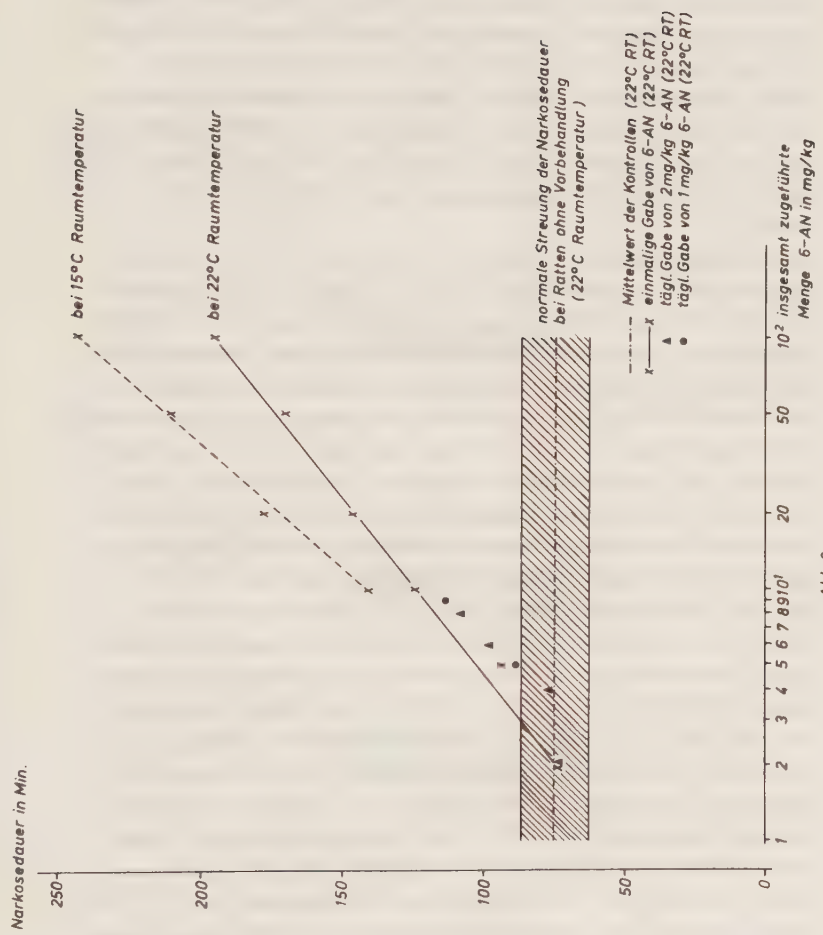


Abb. 8

als die Kontrolltiere. Die Schwellendosis für den nar-
koseverlängernden Effekt des 6-AN liegt also sowohl im
akuten als auch im chronischen Versuch bei einer Gesamt-
zufuhr von ungefähr 5 mg/kg und damit im gleichen Dosis-
bereich wie beim Effekt auf die Körpertemperatur.
Diese Parallelität und der Verlauf der beiden Wirkungs-
kurven in Abb. 7 und Abb. 8 legen die Vermutung nahe,
daß die Verlängerung der Hexobarbitalnarkose allein
durch die vom 6-AN verursachte Hypothermie zustande
kommt.

Um zu entscheiden, wie groß der Einfluß der Körpertem-
peratur auf die Narkosedauer ist, wurden in einem drit-
ten Test Versuchsbedingungen gewählt, die diesen Faktor
eliminieren und somit eine Differenzierung zwischen der
direkten und der durch Hypothermie bedingten Wirkung
von 6-AN auf die Länge der Narkose ermöglichen. Bei einer
Dosis von 10 mg/kg 6-AN werden, wie gezeigt, Körpertem-
peratur und Narkosedauer verändert, ohne daß die Tiere
bei einer erhöhten Umgebungstemperatur, die eine Hypo-
thermie verhindert, sterben. Deshalb wurden Gruppen von
Ratten während des gesamten Experimentes bei 15°, 22°
und 31° C Raumtemperatur gehalten, mit 10 mg/kg 6-AN
vergiftet, die Dauer der Narkose nach 100 mg/kg Hexobar-
bital festgestellt sowie die Rektaltemperatur beim Auf-
wachen gemessen. In Abb. 9 ist die Differenz zwischen
der Körpertemperatur nach dreistündiger Anpassung in der
entsprechenden Raumtemperatur vor dem Versuch und beim
Aufwachen dargestellt. Es zeigt sich, daß bei einer Um-
gebungstemperatur von 15° C die Körpertemperatur 6-AN-
vergifteter Ratten während der Narkosedauer stärker ab-
sinkt als bei 22° C, dennoch ist die Narkose bei 15° C
nicht wesentlich verlängert (Tabelle 7). Bei einer Raum-
temperatur von 31° C wird die temperatursenkende Wirkung
des 6-AN aufgehoben, der Effekt auf die Narkosedauer ist
jedoch unverändert vorhanden. Die festgestellte Verlän-
gerung der Hexobarbitalnarkose muß daher als ein direk-

Narkosedauer und Körpertemperatur beim Aufwachen in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur
24 Stunden nach der Gabe von 10 mg/kg 6-AN

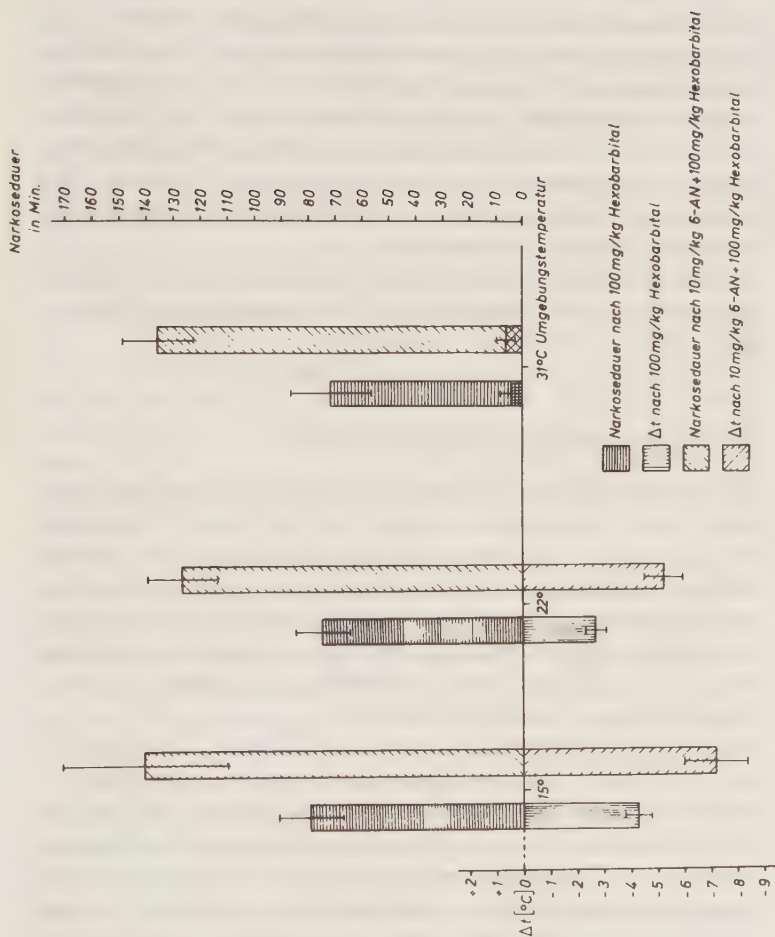


Abb 9

ter Einfluß des 6-AN oder seiner Pyridinnucleotidanalogen auf zentralnervöse Funktionen aufgefaßt werden. Diese Feststellung gilt möglicherweise nur für niedrige 6-AN-Dosen. Nach höheren 6-AN-Gaben ist die Hypothermie so stark ausgeprägt, daß sie direkt einen Einfluß auf die Dauer der Hexobarbitalnarkose haben wird. Unter bestimmten Bedingungen sind aber Narkoseverlängerung und Hypothermie zwei unabhängig voneinander auftretende Effekte des 6-AN im Hypothalamus.

14 Tage nach der letzten 6-AN-Injektion ist bei den Versuchsgruppen eine signifikante Verlängerung der Narkose nicht mehr nachweisbar (Tabelle 7).

5. Einfluß von 6-AN auf die Laufmotorik

Der folgende Versuch bringt eine systematische Untersuchung über Verhaltensstörungen bei 6-AN-vergifteten Ratten. Geprüft wird dabei, ob nach einmaliger Gabe kleiner steigender Dosen von 1 bis 10 mg/kg 6-AN eine Dosiswirkungsbeziehung aufgestellt werden kann und ob der gleiche Effekt auch nach täglichen Injektionen noch geringer, sich als Einzeldosen unwirksam erweisender 6-AN-Mengen (1 bzw. 2 mg/kg) auftritt.

Aus der vorliegenden Literatur ist bekannt, daß nach Applikation von 6-AN bei Ratten neben anderen Symptomen schlaffe Lähmungen vorwiegend an den hinteren Extremitäten auftreten. Da bei diesen Untersuchungen relativ hohe Dosen (über 20 mg/kg) verwandt wurden, die innerhalb weniger Tage zum Tod der Tiere führten, ließ sich die Weiterentwicklung der Störungen im motorischen System nicht verfolgen.

Verabreicht man dagegen Mengen bis zu 15 mg/kg 6-AN, dann überlebt ein Teil der Ratten die akute Intoxikation und die schlaffen Lähmungen verwandeln sich in spastische Paresen.

Nach täglicher Injektion sehr niedriger Dosen von 1 bzw.

2 mg/kg 6-AN zeigen die Ratten bis zu einer Gesamtzufuhr von ca. 7 mg/kg äußerlich kaum Veränderungen. Blepharitiden und hämorrhagische Diarrhöen treten nicht auf; die Tiere erscheinen nur etwas sediert, ihr Gang ist angedeutet gespreizt und stelzig. Irgendwelche Lähmungserscheinungen sind nicht beobachtbar.

Wird die Zufuhr von 6-AN fortgesetzt, so stellen sich feinschlägiger Tremor, Muskelfibrillieren und ohne das Zwischenstadium schlaffer Lähmungen eine ausgeprägte Spastik an den Extremitäten ein. Ein bevorzugter Befall der hinteren Extremitäten wird hier nicht festgestellt.

Die Beschreibung dieser Symptomatik bleibt solange unzulänglich, wie die Veränderungen nicht quantifizierbar sind. Diesen Mangel behebt das bereits dargestellte Verfahren (s. S. 13 f.), mit dem sich selbst schwer beschreibbare Störungen in der Motorik metrisch erfassen lassen.

Die mit dem Lauftest erzielten Ergebnisse zeigt Abb. 10. Die Spuren eines jeden Tieres wurden vor und nach der Behandlung mit 6-AN gemessen, um die Vergleichbarkeit der jeweils erhaltenen Mittelwerte sicherzustellen. Wie aus Abb. 10 hervorgeht, führt 6-AN 24 Stunden p.i. zu einer Verbreiterung der Fußspur, die mit steigenden Dosen zunimmt. Natürlich sind dieser Verbreiterung durch den Körperbau der Ratte Grenzen gesetzt.

Vergleicht man die Wirkungen auf die Laufspuren nach 24 Stunden mit denen nach 14 Tagen, so finden sich bei allen verabfolgten Dosen nach zwei Wochen ausgeprägtere Effekte, die darauf zurückzuführen sind, daß die Wirkung von 6-AN auf das motorische System erst nach einer grösseren Latenzzeit einsetzt. Während z.B. nach der Gabe von 1 x 5 mg/kg nach 24 Stunden noch kein Effekt nachweisbar ist, läßt sich 14 Tage nach der Injektion eine deutliche Verbreiterung der Fußspur feststellen. Nach 5 x 1 mg/kg tritt demgegenüber bereits nach der letzten Applikation

Spurenbreite von Ratten in Abhängigkeit von der 6-AN-Dosis und der Zeit p.i.

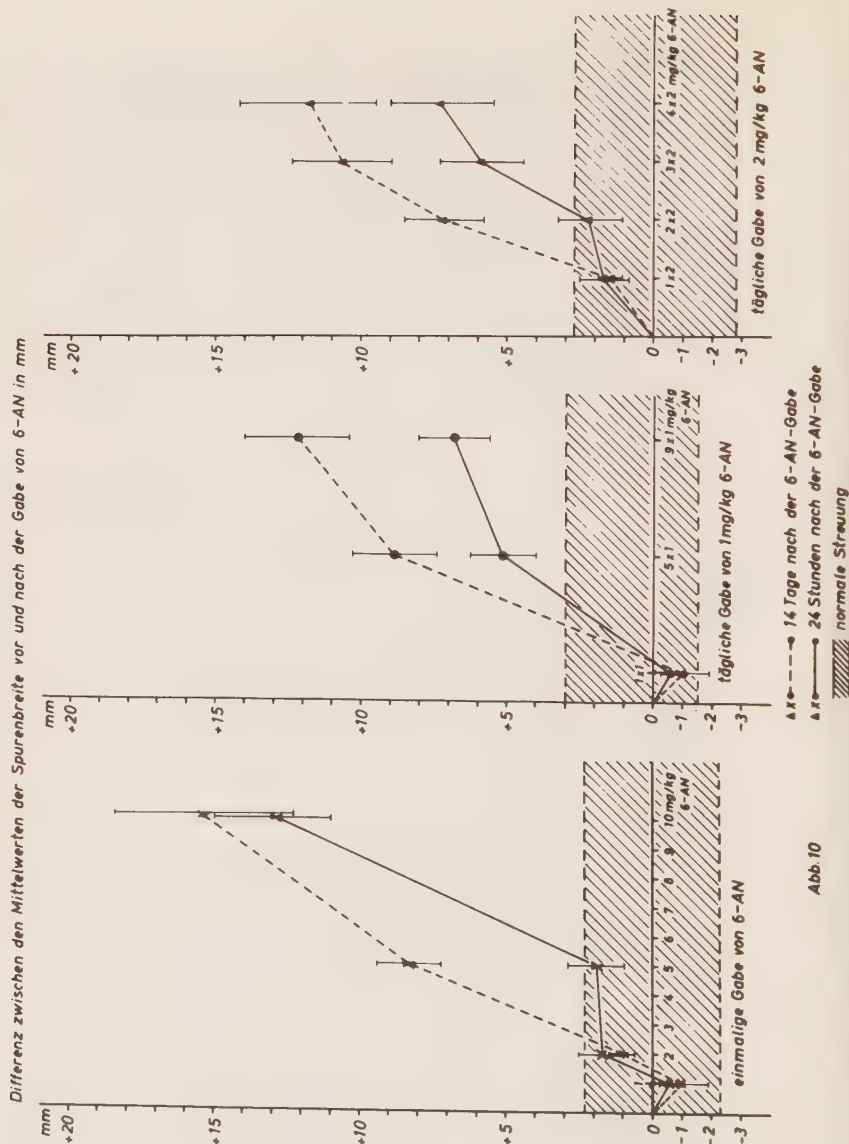


Abb 10

- eine signifikante Wirkung auf, da ja durch die tägliche Gabe von 1 mg/kg die Latenzzeit schon im Behandlungszeitraum beginnt.

Die Ergebnisse bei 2 mg/kg 6-AN/Tag nehmen zwischen diesen beiden Wirkungsverläufen eine Mittelstellung ein.

Während nach 2 x 2 mg/kg nach 24 Stunden noch keine Gangstörung nachweisbar ist, ist eine solche bei 3 x 2 mg/kg (drei Tage Latenzzeit) bereits vorhanden. Vergehen 14 Tage, so ist auch nach 2 x mg/kg 6-AN ein Effekt auf die Motorik der Ratten zu erfassen.

Weiterhin ist festzustellen, daß bei höherer einmaliger Dosierung die Gangstörung früher einsetzt. Es ist aber bei der Deutung dieses Effektes zu berücksichtigen, daß wegen der geringen Spezifizität der Methode ebensogut schlaffe akute Veränderungen erfaßt werden können.

Die Schwellendosis für die 6-AN-Wirkungen auf die Motorik liegt nach einer Latenzzeit von 14 Tagen bei 2x2 mg/kg.

6. Glucose im Blut nach Gabe von 6-AN

Während mit den bisherigen Parametern durch 6-AN bedingte zentralnervöse Funktionsstörungen geprüft wurden, soll die Bestimmung der Veränderungen im Blutzucker den Einfluß der Substanz auf eine wahrscheinlich periphere Stoffwechselgröße erfassen.

Bei den in Abb. 11 dargestellten Werten handelt es sich um die Blutzuckerkonzentrationen, die sechs Stunden nach der letzten Injektion von 6-AN im Blut gefunden wurden. Auch hier läßt sich nach einmaliger Gabe eine Dosiswirkungsbeziehung feststellen. Nach 5 mg/kg ist zwar eine leichte Tendenz zur Ausbildung einer Hyperglykämie nachzuweisen, die betreffenden Werte sind jedoch statistisch nicht signifikant von den Werten der Kontrollgruppe unterschieden und können demnach auch zufallsbedingt sein. Eine statistisch abgesicherte Hyperglykämie tritt erst

*Einfluß einmaliger und täglicher Gaben von 6-AN auf die
Blutzuckerkonzentration (6 Stunden p.i.)*

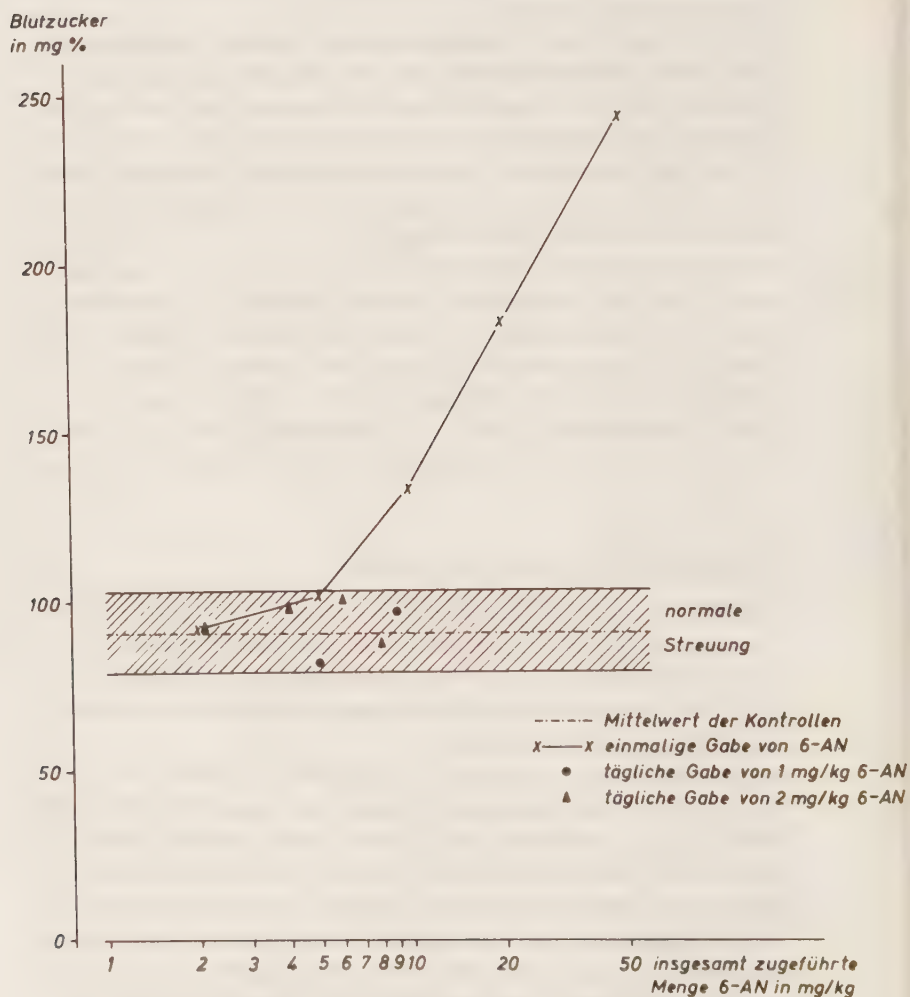


Abb. 11

nach einer Dosis von 10 mg/kg 6-AN auf, so daß damit die Schwellendosis für diesen Effekt gegenüber zentralnervösen Funktionsstörungen beträchtlich erhöht ist.

Tägliche Applikationen von 1 bzw. 2 mg/kg 6-AN bleiben ohne Einfluß auf die Blutzuckerkonzentration. Dieser negative Befund bei täglicher Gabe kleiner Dosen wird verständlich, wenn man den zeitlichen Verlauf der durch 6-AN hervorgerufenen Hyperglykämie betrachtet: die Hyperglykämie erreicht nach sechs Stunden ihr Maximum und ist nach 16 Stunden nur noch ganz gering ausgeprägt. Es wurde deshalb auf eine Prüfung dieser Funktionsstörung nach 14 Tagen verzichtet, zumal ihre Reversibilität bereits durch die Untersuchungen von SCHULTZ et al. (1966) nachgewiesen ist.

IV. DISKUSSION

6-AN ruft in kleinen Dosen zahlreiche vorwiegend zentralnervöse Störungen hervor. Sie äußern sich in reversibler Hypothermie und Verlängerung der Hexobarbitalnarkose sowie in teilweise irreversiblen extrapyramidalmotorischen Schädigungen. Möglicherweise ist die reversible Gewichtsabnahme ebenfalls durch eine zentrale Funktionsstörung zu erklären. Die nach relativ hohen 6-AN-Dosen (10 mg/kg und mehr) beobachtete Hyperglykämie läßt sich mit den in dieser Arbeit verwandten niedrigen einmaligen und täglichen Dosen nicht auslösen.

Die hier dargelegten Ergebnisse, die nach akuter und chronischer Applikation kleiner Gaben von 6-AN erzielt wurden, erweitern und modifizieren die Kenntnisse über die Wirkungen dieser Substanz in einigen Punkten nicht unerheblich.

1. Körpertemperatur

Die Existenz integrativer thermoregulatorischer Strukturen im Hypothalamus, die mithilfe von Ausschaltungs- und Reizversuchen der Wärme- und Kälteregeulatoren erforscht worden sind, kann als gesichert gelten (BARBOUR 1912; KELLER 1933; RANSON u. MAGOUN 1939; TEAGUE u. RANSON 1936; MAGOUN et al. 1938; HEMINGWAY et al. 1940; STRÖM 1950, a, b, c; FELDBERG u. SHERWOOD 1954; BENZINGER 1959; REICHLIN 1960; v. EULER 1961; REWERSKI u. JORI 1967).

Die Ergebnisse sind für die Interpretation der 6-AN-Versuche insofern bedeutsam, als diese Substanz bei Ratten nach i.p.-Applikation eine deutliche Hypothermie hervorruft (NANNI et al. 1961; BRUNNEMANN u. COPER 1963), die wahrscheinlich durch einen Angriff im Hypothalamus zustande kommt. Diese Vermutung wird

durch die Beobachtung gestützt, daß sich die Temperaturregulation zu einem Zeitpunkt normalisiert, in dem die Konzentrationen an 6-ANAD(P) im Hypothalamus auf weniger als die Hälfte abgesunken sind (COPER et al. 1966). Nach 14 Tagen ist bei den mit 6-AN behandelten Ratten keine Hypothermie mehr nachweisbar (Tabelle 1, S. 52).

Andererseits darf nicht übersehen werden, daß die Normalisierung bei bleibender Schädigung der Hauptzentren auch durch eine Aktivierung der thermoregulatorischen Hilfsstrukturen, die im Zentralnervensystem weitverbreitet sind und sich vermutlich über das gesamte Rückenmark erstrecken, erfolgen kann (THAUER 1935; THAUER u. PETERS 1937; v. ISSEKUTZ 1943; THAUER 1958).

Pathophysiologisch kann die durch 6-AN bedingte Hypothermie durch Schädigung der Thermoregulation ohne Beeinträchtigung der Thermogenese zustande kommen. Bei intakten Thermoregulatoren kann aber auch die Thermogenese in ihrer Funktionsfähigkeit gestört sein, so daß bereits eine leichte Erniedrigung der Umgebungstemperatur unter die Indifferenztemperatur die Erwärmungsmechanismen überfordert und daraus eine Hypothermie resultiert. Wäre allein die Temperaturregulation durch 6-AN beeinträchtigt, dann müßte die Hypothermie auch bei 31° C Raumtemperatur auftreten, wie es für Chlorpromazin nachgewiesen wurde (DECOURT et al. 1953; GIAJA u. MARKOVIC-GIAJA 1954). Aus den durchgeführten Experimenten geht jedoch hervor, daß sich die Körpertemperatur bei dieser Umgebungstemperatur nicht ändert. Es ist deshalb zu vermuten, daß 6-AN bei Ratten primär die Thermogenese stört.

Nun wird auch die Thermogenese durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Nach dem derzeitigen Stand der Forschung muß zwischen einer Thermogenese durch Kältezittern und einer zitterfreien Thermogenese unterschieden werden (shivering and no shivering thermogenesis, HART et al. 1956). Bei kleinen Nagern lassen sich

durch Kühlversuche thermoregulatorische Strukturen der Thermogenese durch Kältezittern im cervicalen Bereich des Vertebralkanals nachweisen (BROOKS et al. 1955; IRIKI et al. 1964; RAUTENBERG u. SIMON 1964; SIMON et al. 1964; BRÜCK u. WÜNNENBERG 1966, 1967).

Die zitterfreie Thermogenese scheint bei der Ratte vom Hypothalamus aus durch Katecholamine gesteuert zu werden (HSIEH et al. 1957; DONHOFFER et al. 1959). Dafür sprechen auch neuere Untersuchungen von FELDBERG (1967); durch Injektion von Katecholaminen in die Seitenventrikel ließ sich bei nicht narkotisierten Katzen eine Hypothermie hervorrufen.

Die mit 6-AN vergifteten Tiere zeigten in dem hier durchgeführten Versuch während der Kältebelastung deutliches Zittern, so daß die damit verbundene Wärmeproduktion nicht gestört sein dürfte. Es spricht demnach viel dafür, daß 6-AN zu einer Störung der von den Katecholaminen abhängigen zitterfreien Thermogenese führt, zumal diese Substanz nach den Untersuchungen von SCHACHT et al. (1965) den Stoffwechsel der Katecholamine zumindest in der Peripherie beeinflusst. Um diese Hypothese zu verifizieren, wäre es jedoch nötig, die Wirkung von 6-AN bei Ratten auf den Sauerstoffverbrauch und den Katecholamingehalt im Hypothalamus zu bestimmen.

2. Hexobarbitalnarkose

Der genaue Angriffspunkt der Barbiturate im Gehirn ist trotz einer Fülle von Untersuchungen noch nicht geklärt. Während einige Forscher eine Anreicherung dieser Pharmaka besonders im Thalamus und Striatum feststellten (KEESER, E. u. J. KEESER 1935), konnten andere bei Beginn der tiefen Narkose Barbiturate vor allem in der grauen Substanz, später auch in der weißen Substanz nachweisen (VOGT 1935). Untersuchungen mit

markierten Substanzen ergaben keine spezifische Verteilung des Narkotikums im Hirngewebe (MAYNERT u. v. DYKE 1950). Unbestritten ist die Tatsache, daß die Narkose durch einen Angriff im Zentralnervensystem hervorgerufen wird. Man vermutet den genauen Wirkungsort in den dynamogenen Zonen von Hess (HAHN 1955; HESS 1954; FELDBERG 1967) und diskutiert außerdem, daß die Narkosewirkung auf einer Beeinflussung des in der Formatio reticularis von Stamm- und Zwischenhirn befindlichen Wecksystems beruhe (SCHNEIDER u. HIRSCH 1959). Dieses würde dann als erstes in seiner Funktionstüchtigkeit durch die Barbiturate alteriert (GOODMAN u. GILMAN 1958).

Hexobarbital verursacht unter standardisierten Bedingungen in einer bestimmten Dosis bei allen nicht vorbehandelten Tieren eine zuverlässig reproduzierbare Narkosedauer. Deshalb ist es geeignet, den Einfluß von Pharmaka und so auch von 6-AN auf die Länge der Narkose quantitativ zu erfassen. Eine Verlängerung der Hexobarbitalnarkose nach einer Vorbehandlung der Ratten mit 6-AN konnte experimentell immer wieder bestätigt werden (REDETZKI et al. 1962; BRUNNEMANN u. COPER 1963; COPER et al. 1966; COPER et al. 1968). Grundsätzlich sind drei Möglichkeiten als Ursache der nachgewiesenen Narkoseverlängerung durch 6-AN denkbar:

- (1) Die Substanz hemmt die in den Lebermikrosomen befindlichen Fermente, die das Hexobarbital inaktivieren (COOK et al. 1954; NEUBERT u. HERKEN 1955).
- (2) Der narkoseverlängernde Effekt des 6-AN beruht allein auf der durch 6-AN verursachten Hypothermie.
- (3) 6-AN verlängert durch einen zentralen Angriff die Narkose.

ad (1) Durch Bestimmung der Hexobarbitalkonzentration im Blut nach Vorbehandlung der Ratten mit 6-AN-Dosen zwischen 10 und 100 mg/kg konnten bis zu einer Dosis von 50 mg/kg bei den Versuchs- und Kontroll-

tieren keine Unterschiede in der Oxydationsgeschwindigkeit von Hexobarbital festgestellt werden (COPER et al. 1966; COPER et al. 1968). Damit kann die bereits nach 5 mg/kg 6-AN signifikant verlängerte Narkose nicht auf einem gestörten Abbau des Hexobarbitals beruhen.

ad (2) Untersuchungen über den Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Hexobarbital- und Pentobarbitalnarkose haben gezeigt, daß die im Organismus oxydierten Barbiturate bei niedrigeren Raumtemperaturen eine längere Narkose verursachen (RAVENTOS 1938; BORZELLECA u. MANTHEI 1957; WINNE 1964). Diese Experimente wurden an Mäusen durchgeführt, deren Körpertemperatur sich in der Narkose sehr schnell auf das Niveau der Umgebungstemperatur einstellt (CAMERON 1939). Der narkoseverlängernde Effekt der Barbiturate läßt sich mit der Verminderung der Entgiftungsrate bei niedrigeren Körpertemperaturen erklären (FUHRMANN 1946; WINNE 1964). Wäre die durch 6-AN bewirkte Hypothermie allein für die Verlängerung der Narkose verantwortlich, dann dürfte die Erhöhung der Narkosedauer bei 6-AN vergifteten Ratten, deren Körpertemperatur bei einem Versuch in 31° C Umgebungstemperatur unverändert blieb, nicht auftreten. Die sich dennoch zeigende Verlängerung der Hexobarbitalnarkose spricht gegen Hypothese (2).

ad (3) Es ist daher anzunehmen, daß 6-AN durch einen zentralen Angriff die Hexobarbitalnarkose verlängert. Dieser Effekt ist eine Stunde nach der Vorbehandlung noch nicht nachweisbar, nach 16 Stunden stark ausgeprägt (COPER et al. 1968) und hält über 24 Stunden an. Daher dürfte nicht das unveränderte 6-AN, das zu diesem Zeitpunkt bereits zum größten Teil wieder ausgeschieden ist, sondern die im Zen-

tralnervensystem synthetisierten Analogen 6ANAD(P) das wirksame Agens sein, zumal die Nucleotidsynthese dieser Analogen 12 Stunden p.i. ihr Maximum erreicht (COPER et al. 1966).

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der 6-AN-Analogen ergaben eine Hemmung der NADP-abhängigen Dehydrogenasen (COPER u. NEUBERT 1964). Besonders empfindlich wurde die Geschwindigkeit der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase beeinflusst. Auch Perazin und Reserpin hemmen dieses Ferment in recht geringen Konzentrationen, so daß der narkoseverlängernde Effekt des 6-AN und der Neuroleptica auf eine Störung im Pentosephosphatzzyklus in bestimmten Gebieten des Gehirns zurückgeführt wurde (COPER et al. 1968).

Es wäre nun interessant zu untersuchen, wie die Hexobarbitalnarkose durch gleichzeitige Vorbehandlung mit 6-AN und einem Neurolepticum oder Reserpin alteriert wird.

3. Laufmotorik

Die chronische Applikation zentralwirksamer Pharmaka verursacht beim Menschen gelegentlich extrapyramidal-motorische Veränderungen, die als medikamentöser Parkinsonismus beschrieben werden. Wegen seiner Wirkungen auf das extrapyramidal-motorische System, die - je nach Dosis - von kaum sichtbaren Veränderungen in der Motorik bis zur spastischen Parese vorwiegend der hinteren Extremitäten reichen, scheint 6-AN geeignet zu sein, solche Effekte im Tierversuch nachzuahmen.

Die bisher diskutierten zentralnervösen Funktionsstörungen nach Gabe von 6-AN sind reversibel. Weitere neurotoxische, das motorische System betreffende Schädigungen führen zu schlaffen Lähmungen, die später in

Spastik und Tremor übergehen. Diese Läsionen sind meist irreversibel.

Pathohistologisch lassen sich nach Gabe von 6-AN im Rückenmark 36 Stunden später diffuse Veränderungen im Bereich der Vorderhornzellen mit Ödem und Blutungen nachweisen, die das Korrelat der sichtbaren schlaffen Lähmungen darstellen. Spätbefunde ergaben, daß sich die Vorderhornzellen vollständig erholen können.

Anders verhält es sich mit den Defekten, die in den medialen dorsolateralen Gebieten der Formatio reticularis beobachtet werden. Es wird angenommen, daß es hier durch eine Schädigung der Schaltneurone zur Deafferenzierung der α -Motoneurone kommt (SCHNEIDER 1968). Damit dürfte nachgewiesen sein, daß die beiden 6-AN-vergifteten Ratten beobachtete Spastik und der Tremor durch Schädigungen im Rückenmark verursacht werden. Nur dieses Problem wird in den folgenden Ausführungen näher behandelt; andere zentralnervöse Störungen, die ebenfalls Spastik hervorrufen, bleiben hier unbeachtet.

Bedeutsam werden in diesem Zusammenhang Ergebnisse der letzten Jahre über die Ursachen des Rigors und Tremors beim Parkinson. Gegenüber früheren Untersuchungen, die die extrapyramidalmotorischen Veränderungen beim Parkinson fast ausschließlich auf Schädigungen in corticalen und subcorticalen Regionen zurückführten (BENDA u. COBB 1942; WARD et al. 1948; SPIEGEL u. WYCIS 1958), hat die neuere Forschung die Bedeutung des γ -Motoneuronsystems für diese Symptomatik in den Vordergrund gestellt. Als allgemein gesichert darf gelten, daß der Rigor und Tremor beim Parkinson durch Beeinträchtigung des γ -Motoneuronsystems zustande kommt (FRIEDMAN u. EVERETT 1964), wobei einige Autoren eine Hypoaktivität dieses Systems annehmen (HASSLER 1955; JUNG u. HASSLER 1960; STERN u. WARD 1962). Dieser Aspekt der

modernen Parkinson-Forschung wird für die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse relevant. Ein Vergleich dieser Befunde mit den zu Beginn dieses Abschnittes referierten Ergebnissen von SCHNEIDER (1968) legt nämlich die Vermutung nahe, daß die Spastik und der Tremor der 6-AN-vergifteten Ratten von einer Schädigung des γ -Motoneuronsystems herrührt. Wieweit auch die Renshawzellen, die als Frequenzmodulatoren der α -Motoneurone aufgefaßt werden (SCHNEIDER 1963), mitgeschädigt werden oder ob deren Schädigung sogar allein für die beobachtete Symptomatik verantwortlich ist, kann hier nicht entschieden werden.

Der in der Untersuchung verwandte Lauftest erweist sich als zuverlässiges Verfahren, um Änderungen in der Motorik bei Ratten frühzeitig zu erfassen. Er bewährt sich als empfindliche Untersuchungsmethode, wenn Schädigungen einer Noxe im extrapyramidalmotorischen System oder der willkürlichen Muskulatur zu prüfen sind. Im Gegensatz zu der guten Reliabilität steht die geringe Validität dieses Testes, d.h. die Sicherheit, mit der bestimmte Funktionsstörungen differenziert erfaßt werden können, ist unzulänglich. Da als einzige Veränderliche die Spurenbreite untersucht wird, ist die Aussagefähigkeit des Testes insofern beschränkt, als er lediglich das Vorliegen einer Störung in der Motorik anzeigt, aber keine Angaben über die Art der Störung macht.

Eine gewisse Differenzierungsfähigkeit des Testes könnte sich aus den Experimenten von KHAIRY (1959) ergeben. KHAIRY konnte mit dieser Methode nach einer Vergiftung mit DDT bei Mäusen eine Verschmälerung der Spur nachweisen. Dagegen zeigt sich nach 6-AN eine Verbreiterung der Laufspur von Ratten. Während nach DDT eine Störung der Afferenzen im Rückenmark angenommen wird, schädigt 6-AN die Efferenzen. Ob eine solche Zuordnung der unterschiedlichen Spurenveränderungen, d.h. Verschmäle-

rung = Störung in den Afferenzen, Verbreiterung = Störung in den Efferenzen, berechtigt ist, müßte durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

HAIDER et al. (1962, 1967) haben durch Bestimmung der Laufgeschwindigkeit und Länge der Spuren zwei weitere Meßgrößen mit diesem Test geprüft. Es gelang ihnen, bei 3-AP-vergifteten Ratten frühzeitig Lokomotionsveränderungen zu erkennen. Ein Rückschluß auf die zugrundeliegenden Störungen war jedoch allein nach den Versuchsergebnissen auch hier nicht möglich.

4. Glucose/Körpergewicht

Die nach hohen Dosen von 6-AN bei der Ratte festgestellte frühe Hyperglykämie wird durch die vermehrte Inkretion von Adrenalin und Störungen im insulinabhängigen Glucosetransport verursacht (v. BRUCHHAUSEN 1965; SCHULTZ et al. 1966; v. BRUCHHAUSEN u. HERKEN 1966). Durch die Latenzzeit bis zum Auftreten einer Störung der Glucoseaufnahme in vitro (v. BRUCHHAUSEN 1965; v. BRUCHHAUSEN u. HERKEN 1966) und der Hyperglykämie in vivo (SCHULTZ et al. 1966) erhebt sich die Frage, ob 6-AN oder die daraus synthetisierten Analogen 6-ANAD(P) für diese Beeinflussung der Insulinwirkung verantwortlich sind.

Vergleicht man den Glucoseanstieg im Blut nach Applikation von 6-AN mit der Ausscheidungsrate dieser Substanz im Urin, so zeigt sich, daß die beiden Maxima geringfügig gegeneinander verschoben auftreten. Die Hyperglykämie wird zu einer Zeit nachweisbar, in der die ausgeschiedene 6-AN-Menge noch auf eine beachtliche Konzentration der unveränderten Verbindung im Blut schließen läßt und sie geht gleichzeitig mit der im Urin vorhandenen 6-AN-Menge zurück. Da auch Nicotinamid und Nicotinsäure den Blutzucker bei der Ratte beeinflussen (KLEBER u. MANTHEI 1961; ROOT u. ASHMORE

1964), wird wahrscheinlich die 6-AN-Hyperglykämie bei Ratten eher durch die freie Verbindung als durch die Analogen hervorgerufen (COPER et al. 1966). Wenn, wie jetzt nachgewiesen ist, die tägliche Gabe kleiner kumulierender 6-AN-Dosen ohne Effekt auf den Blutzucker bleibt, so ließe sich das durch die unzureichende Konzentration der freien Substanz im Blut bei dieser Applikationsart erklären.

Einschränkend muß in diesem Zusammenhang aber erwähnt werden, daß ein Vergleich der Körpergewichtskurven von hungernden mit denen von 6-AN-vergifteten Tieren die Vermutung nahelegt, die mit 6-AN behandelten Ratten befänden sich nach einer Gesamtzufuhr von ca. 5 mg/kg im Hungerzustand. Nach v. HERRATH (1968) ist der Blutzucker bei hungernden Ratten auf 67 mg% erniedrigt. Es dürfte deshalb möglich sein, auch nach chronischer Gabe von 6-AN eine späte, durch Corticosteron bedingte relative Hyperglykämie nachzuweisen (v. HERRATH 1968), wenn sich die Kontrolltiere ebenfalls im Hungerzustand befinden.

Das Zentrum für Nahrungsaufnahme wird im Hypothalamus lokalisiert und ist als Doppelzentrum mit einem aktivierenden lateralen und einem hemmenden medialen Anteil angelegt. Eine Zerstörung des Nucleus ventromedialis führt zur Fettsucht, während der Ausfall einer relativ kleinen Region lateral vom Nucleus ventromedialis Appetitlosigkeit und Kachexie zur Folge hat (BROBECK et al. 1943; ARNAND u. BROBECK 1951; MAYER u. GREENBERG 1953; BROBECK et al. 1956; BROBECK 1957).

Die bereits nach 3 mg/kg 6-AN festgestellte Gewichtsabnahme der Ratten ist 10 Tage nach der letzten Injektion nicht mehr vorhanden. Sie hört also zu einem Zeitpunkt auf, in dem auch die Konzentrationen von 6-ANAD(P) im Hypothalamus erheblich abgesunken sind (COPER et al. 1966).

Möglicherweise liegt hier eine weitere reversible Störung einer vom Hypothalamus aus gesteuerten Funktion vor.

5. Urinausscheidung

6-AN unterliegt einem trägen Stoffwechsel, wenn es Ratten injiziert wird. Der größte Teil der Verbindung wird unverändert, ein geringer Teil als N-Methyl-6-AN ausgeschieden (NEUHOFF, CHRIST). Wird anhand der 6-AN-Elimination im Urin die Konzentration der im Organismus verbliebenen Substanz errechnet, so ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung mit Ergebnissen, die nach Applikation von C^{14} -markiertem 6-AN erzielt wurden. Nach einmaliger und täglicher Injektion von insgesamt 10 mg/kg 6-AN beträgt der rechnerisch ermittelte Wert der 6-AN-Konzentration nach 12 Stunden bei Gleichverteilung etwa $3 \cdot 10^{-8}$ pro Mol Frischgewicht. Dieser Wert liegt damit in der gleichen Größenordnung, wie er nach Applikation von C^{14} -markiertem 6-AN gefunden wurde (COPER 1966).

Die Elimination von 6-AN erfolgt exponential zur Zeit, wobei die Hauptmenge in den ersten vier Stunden im Urin erscheint. 12 Stunden p.i. ist der größte Teil der Verbindung aus der Blutbahn verschwunden, wie es ebenfalls mit C^{14} -markiertem 6-AN nachgewiesen wurde (COPER 1966). Entsprechend diesem Befund erreicht die Konzentration der im Gewebe synthetisierten Analogen 6-ANAD(P) ihr Maximum zwischen der sechsten und zwölften Stunde p.i. (HERKEN u. NEUHOFF 1964; COPER 1966). Effekte des 6-AN, die innerhalb der ersten 12 Stunden p.i. auftreten und wieder verschwinden, dürften deshalb eher als Wirkung der unveränderten Substanz als der 6-AN-Analogen aufgefaßt werden.

Darunter sind die Wirkungen auf den Kohlehydratstoffwechsel zu zählen, während für die übrigen in dieser

Arbeit untersuchten Parameter ein Zusammenhang zwischen der Ausscheidung der freien Substanz und dem Auftreten der Funktionsstörungen nicht festgestellt werden kann. Die Erniedrigung der Körpertemperatur, die Verlängerung der Hexobarbitalnarkose, der Gewichtsverlust und die Veränderung der Laufspuren müssen daher auf die 6-AN-Analogen zurückgeführt werden. Bei diesen Parametern zeigt sich eindeutig ein kumulativer Effekt des 6-AN, so daß die durch Bestimmung der ausgeschiedenen 6-AN-Menge festgestellte Kumulation der Substanz vollauf bestätigt wird.

6. Zusammenfassende Diskussion

Zum Abschluß seien alle Ergebnisse noch einmal in ihrem Zusammenhang untereinander diskutiert.

In den vorliegenden Untersuchungen erwiesen sich die geprüften Parameter des Zentralnervensystems im Vergleich zu der untersuchten Stoffwechselfunktion als weitaus anfälliger (Tabelle 1). Bei letzterer tritt erst nach 1 x 10 mg/kg 6-AN eine Hyperglykämie auf; durch tägliche Gabe kleiner kumulierender Gaben von 6-AN läßt sich dieser Effekt nicht erzielen.

Die zentralnervösen Funktionsstörungen ließen sich dagegen bereits mit Dosen von ca. 5 mg/kg 6-AN (der Gewichtsverlust sogar nach 3 mg/kg, so daß sich dieser Parameter als am empfindlichsten erwies) hervorrufen. Dabei war es gleichgültig, ob die Menge einmalig oder in täglichen Gaben von 1 bzw. 2 mg/kg injiziert wurde. Es muß daher vermutet werden, daß 6-AN zwar rasch von der Nervenzelle aufgenommen wird, die synthetisierten Analogen jedoch nur langsam wieder eliminiert werden können. Dieses verzögerte Verschwinden der 6-AN-Pyridinnucleotide kann darauf beruhen, daß diese die Nervenzellen nicht mehr verlassen können und die Entgiftungskapazität der Ganglienzellen ihnen gegenüber eingeschränkt ist.

*Einfluß von 6 - AN nach einmaliger und täglicher Gabe auf fünf Parameter
24 Stunden bzw. 6 Stunden p.i.*

(Tabelle 1)

Dosis in mg/kg 6-AN	Hypothermie 24 Std. p.i.	Markosever- längerung 24 Std. p.i.	Verbreiterung der Spur 24 Std. p.i.	Gewichtsverlust 24 Std. p.i.	Hyperglykämie 6 Std. p.i.
1x 1mg	+	+	+	+	+
1x 2mg	+	+	+	+	+
1x 5mg	+	+	+	+	+
1x 10mg	+	+	+	+	+

Dosis in mg/kg 6-AN	Hypothermie 24 Std. p.i.	Markosever- längerung 24 Std. p.i.	Verbreiterung der Spur 24 Std. p.i.	Gewichtsverlust 24 Std. p.i.	Hyperglykämie 6 Std. p.i.
1x 1mg	0	0	+	+	0
2x 1mg	+	+	+	+	+
5x 1mg	+	+	+	+	+
9x 1mg	+	+	+	+	+

Dosis in mg/kg 6-AN	Hypothermie 24 Std. p.i.	Markosever- längerung 24 Std. p.i.	Verbreiterung der Spur 24 Std. p.i.	Gewichtsverlust 24 Std. p.i.	Hyperglykämie 6 Std. p.i.
1x 2 mg	+	+	+	+	+
2x 2 mg	+	+	+	+	+
3x 2 mg	+	+	+	+	+
4x 2 mg	+	+	+	+	+

*Einfluß von 6 - AN nach einmaliger und täglicher Gabe auf fünf Parameter
14 Tage p.i.*

Dosis in mg/kg 6-AN	Hypothermie	Markosever- längerung	Verbreiterung der Spur	Gewichtsverlust	Hyperglykämie
1x 1 mg	+	0	+	0	0
1x 2 mg	+	0	+	0	0
1x 5 mg	+	0	+	0	0
1x 10 mg	+	0	+	0	0

Dosis in mg/kg 6-AN	Hypothermie	Markosever- längerung	Verbreiterung der Spur	Gewichtsverlust	Hyperglykämie
1x 1 mg	0	0	+	0	0
2x 1 mg	+	0	+	0	0
5x 1 mg	+	0	+	0	0
9x 1 mg	+	0	+	0	0

Dosis in mg/kg 6-AN	Hypothermie	Markosever- längerung	Verbreiterung der Spur	Gewichtsverlust	Hyperglykämie
1x 2 mg	+	0	+	0	0
2x 2 mg	+	0	+	0	0
3x 2 mg	+	0	+	0	0
4x 2 mg	+	0	+	0	0

Zeichenerklärung: + signifikanter Effekt $p > 0.0027$

0 keine Signifikanz gegenüber den Kontrollen

0 Versuch nicht durchgeführt, da nach den vorliegenden Ergebnissen kein Effekt zu erwarten war.

Weiterhin muß eine unterschiedliche Empfindlichkeit der zentralen Nervenzellen gegenüber 6-AN angenommen werden. Es zeigt sich nämlich, daß im Hypothalamus zwar die höchsten 6-ANAD(P)-Konzentrationen im Gehirn gefunden werden (COPER et al. 1966), morphologische Schäden aber dort nicht auftreten (SCHNEIDER 1968). Die festgestellten Störungen der vom Hypothalamus aus gesteuerten Funktionen, bei denen neurolepticaähnliche Wirkungen des 6-AN auftraten, erwiesen sich dementsprechend als reversibel.

Im Rückenmark dagegen, wo sich die geringsten Mengen der 6-AN-Analogen nachweisen lassen, traten an bestimmten Zellgruppen nach der größten Latenzzeit bei einer Schwellendosis von 4 mg/kg 6-AN irreversible Schäden auf. Es bliebe zu klären, ob diese Zellen eine besondere Affinität zum 6-AN haben und diese Substanz verglichen mit den übrigen Ganglien in besonderem Ausmaße speichern oder aber ob die Verteilung in den Rückenmarksganglien gleichmäßig ist und diese Zellen aufgrund ihrer Stoffwechsellmuster durch die Substanz irreversibel geschädigt werden.

Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit den Befunden aus der cytostatischen Therapie Ca-kranker Patienten ergibt die überraschende Übereinstimmung, daß nach einer Zufuhr von ca. insgesamt 5 mg/kg 6-AN beim Menschen und bei der Ratte neurologische Schäden auftreten (PERLIA et al. 1961), unabhängig davon, ob diese Menge in einmaligen oder täglichen, auch ganz geringen Dosen wie z.B. 0,2 mg/kg (HERTER et al. 1961) verabreicht wird. Solange diese Gesamtdosis von 5 mg/kg noch nicht erreicht ist, besteht relative Beschwerdefreiheit, sieht man von einer leichten Sedierung, Herabsetzung des Muskeltonus (PERLIA et al. 1961) und anderen trophotropen Reaktionen ab.

Die verschiedenen Wirkungen auf das motorische und hypothalamische System weisen 6-AN als Modells substanz

für neuropharmakologische Experimente aus. Da sein biochemischer Wirkungsmechanismus bekannt ist, lassen die Störungen Rückschlüsse zu auf die Bedeutung des Pyridinnucleotidstoffwechsels für die normale Funktion der Nervenzelle. Außerdem läßt sich zeigen, daß bestimmte Zellgruppen und Funktionszentren im Zentralnervensystem durch 6-AN selektiv beeinflußt werden können.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Über die Ausscheidung von 6-AN war lediglich bekannt, daß es zu einem großen Prozentsatz in unveränderter und teilweise N-methylierter Form in den ersten Stunden p.i. im Urin eliminiert wird. Durch eine spektrofluorometrische Bestimmungsmethode, die in Anlehnung an HERKEN und NEUHOFF variiert wurde, ließ sich das ausgeschiedene 6-AN quantitativ erfassen. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- (1) Die Ausscheidung von 6-AN mit dem Urin verläuft exponential mit der Zeit, wobei die prozentual größten Mengen in den ersten 12 Stunden im Urin erscheinen.
- (2) Die Ausscheidung folgt einer Dosiswirkungsbeziehung.
- (3) Tägliche Gaben von 1 bzw. 2 mg/kg 6-AN kumulieren im Organismus.

Anschließend wurden die pharmakologische Beeinflussung von fünf Funktionen bei einmaliger und täglicher 6-AN-Applikation untersucht, die Schwellendosen ermittelt, die Reversibilität der beobachteten Effekte geprüft und das Auftreten dieser Effekte mit der Ausscheidung der unveränderten Substanz in Abhängigkeit von der Zeit korreliert.

- (1) Die Schwellendosis für die Erniedrigung der Körpertemperatur liegt nach einmaliger 6-AN-Gabe bei ca. 5 mg/kg und ist nach täglicher Injektion von 1 bzw. 2 mg/kg geringfügig auf insgesamt 6 mg/kg erhöht. Durch Erniedrigung der Außentemperatur wird die Wirkschwelle angedeutet zu niedrigeren Dosen hin verschoben.

Nach 14 Tagen läßt sich eine Hypothermie nicht mehr feststellen.

Als Ursache der Erniedrigung der Körpertemperatur

muß eine Beeinträchtigung der zitterfreien Thermogenese angenommen werden. Ein Einfluß des 6-AN auf das Kühlzentrum konnte nicht nachgewiesen werden.

- (2) Die Hexobarbitalnarkose wird bei einer Schwellendosis von insgesamt ca. 5 mg/kg 6-AN nach einmaliger und täglicher Applikation reversibel (die Prüfung erfolgte nach 14 Tagen) verlängert. Die narkoseverlängernde Wirkung des 6-AN beruht nicht auf einem verzögerten Abbau des Hexobarbitals, sie ist auch nicht als Folge der erniedrigten Körpertemperatur zu erklären, sondern muß auf einen Angriff der Substanz im Hypothalamus zurückgeführt werden.
- (3) Die frühe Hyperglykämie, die nach sechs Stunden ihr Maximum erreicht und sich 16 Stunden p.i. bereits zurückbildet, läßt sich erst durch eine einmalige Gabe von 10 mg/kg 6-AN auslösen. Nach täglicher Gabe kleiner 6-AN-Mengen tritt kein Effekt auf die Kohlehydrattoleranz auf.
- (4) Nach einer Gesamtzufuhr von 3 mg/kg 6-AN wird eine Gewichtsabnahme der Ratten beobachtet. Sie ähnelt nach insgesamt 5 mg/kg derjenigen von hungernden Tieren und ist nach 10 Tagen reversibel.
Wahrscheinlich handelt es sich um eine Störung des hypothalamischen Appetitzentrums, das im lateralen Anteil des Nucleus ventromedialis nachgewiesen ist.
- (5) Durch tägliche Zufuhr niedriger 6-AN-Dosen lassen sich ohne das Zwischenstadium einer schlaffen Lähmung sofort eine ausgeprägte Spastik und feinschlägiger Tremor an den Extremitäten hervorrufen. Ein bevorzugter Befall der hinteren Extremitäten konnte hierbei nicht festgestellt werden. Blepharitiden und hämorrhagische Diarrhöen traten nach täglicher 6-AN-Injektion selbst nach einer Gesamtdosis von 10 mg/kg nicht auf.
Die mit dem Lauftest gemessene Störung der Motorik ergab eine dosisabhängige Verbreiterung der Spuren. Während nach 24 Stunden p.i. die Wirkschwellen nach ein-

maliger Gabe bei 10 mg/kg und nach täglicher Gabe bei insgesamt 5 mg/kg 6-AN lagen, erniedrigte sich die Schwellendosis 14 Tage später auf insgesamt 4 mg/kg 6-AN bei täglicher Applikation. Diese Funktionsstörungen waren zum Teil irreversibel.

Der hier entwickelte Lauftest erwies sich als stabil hinsichtlich der Zeit. Hingegen war seine Validität, d.h. die Sicherheit, mit der bestimmte Funktionsstörungen differenziert erfaßt werden können, unzulänglich.

Die Versuche ergaben, daß sich die geprüften zentralnervösen Funktionen durch einmalige und tägliche unterschwellige, die Kohlehydrattoleranz nur durch einmalige bedeutend höher liegende Gaben von 6-AN beeinflussen lassen.

Die Erhöhung der Blutzuckerkonzentration verläuft annähernd parallel zur 6-AN-Elimination im Urin, während eine Koinzidenz zwischen den auftretenden zentralnervösen Effekten und der im Urin ausgeschiedenen 6-AN-Menge nicht nachweisbar ist.

Diese Befunde stützen die Annahme, daß die Hyperglykämie durch die unveränderte Substanz hervorgerufen wird, die zentralnervösen Funktionen jedoch besonders empfindlich durch die Synthese von 6-AN-Analogen des NAD(P) im Gehirn gestört werden.

T a b e l l e 2 zu Abb. 1

Abweichung der Eichwerte vom Mittelwert bei jeweils 10 Bestimmungen

zugesezte Menge 6-AN in	Fluoreszenz bei 6-AN+H ₂ O	Fluoreszenz bei 6-AN+Harn
0,125	3,93 ± 0,41	2,26 ± 0,52
0,250	6,75 ± 0,37	6,50 ± 0,32
0,500	13,30 ± 0,21	13,00 ± 0,19
1,000	26,75 ± 0,37	27,10 ± 0,24
2,000	54,00 ± 0,42	53,90 ± 0,51
3,000	83,50 ± 0,94	80,50 ± 0,61
5,000	131,00 ± 0,82	129,20 ± 0,93
7,500	200,30 ± 1,34	192,70 ± 1,01
10,000	261,30 ± 4,28	289,30 ± 4,79
12,500	287,30 ± 8,98	295,40 ± 7,42

T a b e l l e 3 zu Abb. 4

Ausscheidung von 6-AN im Urin nach 20 mg/kg 6-AN i.p. in Abhängigkeit von der Zeit

Zeit nach Injektion von 6-AN (Stunden)	ausgeschie- dene Menge 6-AN in mg/kg	prozentual ausgeschie- dene Menge 6-AN in mg/kg	insgesamt ausgeschie- dene Menge 6-AN in mg/kg
0 - 4	8,30 ± 1,30	41,4 ± 6,49	8,30
4 - 8	2,91 ± 0,70	14,5 ± 3,40	11,21
8 - 12	1,70 ± 0,24	8,5 ± 1,20	12,91
12 - 24	0,33 ± 0,14	1,6 ± 0,77	13,24

T a b e l l e 4 zu Abb. 5

Ausscheidung von 6-AN im Urin nach einmaliger und täglicher
6-AN-Gabe (Sammelurin über 12 Std. p.i.)

einmalige Gabe von 6-AN in mg/kg	Anzahl der Ver- suchstiere (n)	ausgeschiedene Men- ge 6-AN in mg/kg
1	20	0,29 $\pm$ 0,03
2	20	0,61 $\pm$ 0,07
5	22	1,81 $\pm$ 0,25
10	32	4,40 $\pm$ 0,82
20	30	11,20 $\pm$ 2,60
50	20	31,50 $\pm$ 7,20
100	18	74,20 $\pm$ 9,30

tägliche Gabe von 1 mg/kg 6-AN (ins- gesamt zugeführte Mengen)	n	insgesamt ausge- schiedene Menge 6-AN in mg/kg
1 x 1	10	0,30 $\pm$ 0,02
2 x 1	10	0,61 $\pm$ 0,04
3 x 1	10	0,95 $\pm$ 0,12
4 x 1	10	1,31 $\pm$ 0,14
5 x 1	10	1,68 $\pm$ 0,18
6 x 1	10	2,09 $\pm$ 0,15
7 x 1	10	3,51 $\pm$ 0,31
8 x 1	10	2,92 $\pm$ 0,28
9 x 1	10	3,36 $\pm$ 0,32
10 x 1	10	3,93 $\pm$ 0,61

tägliche Gaben von 2 mg/kg 6-AN (ins- gesamt zugeführte Mengen)	n	insgesamt ausge- schiedene Menge 6-AN in mg/kg
1 x 2	10	0,61 $\pm$ 0,08
2 x 2	10	1,28 $\pm$ 0,14
3 x 2	10	2,09 $\pm$ 0,16
4 x 2	10	2,95 $\pm$ 0,24
5 x 2	10	3,96 $\pm$ 0,24

Tabelle 5 zu Abb. 5a

Einfluß von 6-AN und Hunger auf das Körpergewicht bei Ratten

Kontrollen	Veränderung des Körper- gewichts in g 24 Std. p.i.	tägliche Zufuhr v. 6-AN in mg/kg	Veränderung des Körper- gewichts in g 24 Std.p.i.	p gegen- über den Kontroll- len
1 x NaCl	+3,1 $\pm$ 2,6	1 x 1	+2,8 $\pm$ 3,3	
2 x NaCl	+3,0 $\pm$ 2,8	2 x 1	0 $\pm$ 5,3	p>0,1
3 x NaCl	+3,9 $\pm$ 3,0	3 x 1	-3,1 $\pm$ 2,7	p<0,002
4 x NaCl	+2,6 $\pm$ 1,7	4 x 1	-2,2 $\pm$ 2,7	
5 x NaCl	+2,4 $\pm$ 1,7	5 x 1	-2,5 $\pm$ 3,8	
6 x NaCl	+2,1 $\pm$ 2,4	6 x 1	-6,1 $\pm$ 4,5	
7 x NaCl	+2,3 $\pm$ 3,7	7 x 1	-7,0 $\pm$ 4,8	
8 x NaCl	+1,3 $\pm$ 2,8	8 x 1	-6,4 $\pm$ 3,7	
9 x NaCl	+3,5 $\pm$ 3,8	9 x 1	-8,0 $\pm$ 4,0	

hungernde
Ratten

1. Tag	-11,0 $\pm$ 2,3	1 x 2	+2,0 $\pm$ 3,7	p>0,05
2. Tag	- 7,5 $\pm$ 3,2	2 x 2	-3,5 $\pm$ 2,2	p<0,002
3. Tag	- 8,3 $\pm$ 2,9	3 x 2	-6,5 $\pm$ 3,7	
4. Tag	- 6,0 $\pm$ 2,1	4 x 2	-9,5 $\pm$ 4,9	

nach Nahrungszufuhr

1. Tag	+18,7 $\pm$ 5,2
2. Tag	+ 9,1 $\pm$ 4,2
3. Tag	+ 5,3 $\pm$ 2,1
4. Tag	+ 1,5 $\pm$ 2,1
5. Tag	+ 2,7 $\pm$ 3,2
6. Tag	+ 4,2 $\pm$ 3,4
7. Tag	+ 1,4 $\pm$ 0,9

nach Beendigung d. 6-AN-Injektionen

2. Tag p.i.	-9,3 $\pm$ 2,7
3. Tag p.i.	-4,7 $\pm$ 2,2
4. Tag p.i.	-6,7 $\pm$ 4,2
5. Tag p.i.	-5,1 $\pm$ 1,7
6. Tag p.i.	-5,1 $\pm$ 1,9
7. Tag p.i.	-2,7 $\pm$ 2,7
8. Tag p.i.	-1,7 $\pm$ 4,8
9. Tag p.i.	-0,7 $\pm$ 3,7
10. Tag p.i.	+0,1 $\pm$ 3,2
11. Tag p.i.	+2,3 $\pm$ 7,1
12. Tag p.i.	+1,4 $\pm$ 4,2

T a b e l l e 6 zu Abb. 7

Einfluß von 6-AN nach einmaliger Gabe auf die Körpertemperatur bei unterschiedlichen Umgebungstemperaturen (UT)

24. Std. p.i.

inji- zierte Menge	Körpertem- peratur in Grad C bei 39° C UT	p gegen- über den Kontrol- len	Körpertem- peratur in Grad C bei 22° C UT	p gegen- über den Kontrol- len	Körpertem- peratur in Grad C bei 4° C UT	p gegen- über den Kontrol- len
Kon- trollen 1xNaCl	39,77±0,31 n=10		37,56±0,28 n=10		37,56±0,38 n=10	
1x1 mg/ kg 6-AN	39,86±0,43 n=10	p>0,5	37,74±0,49 n=10	p>0,3	37,42±0,34 n=10	p>0,3
1x2 mg/ kg 6-AN	39,81±0,17 n=10	p>0,7	37,58±0,41 n=10	p>0,8	37,32±0,44 n=10	p>0,2
1x5 mg/ kg 6-AN	40,03±0,35 n=10	p>0,1	37,09±0,36 n=10	p<0,002	36,99±0,27 n=10	p<0,001
1x10 mg/ kg 6-AN	40,24±0,29 n=10	p>0,1	35,97±0,50 n=10	p<0,001	33,29±1,96 n=10	p<0,001

14 Tage p.i.

Kon- trollen 1xNaCl	39,63±0,27 n=10		37,53±0,28 n=10		37,46±0,35 n=10	
1x1 mg/ kg 6-AN	39,80±0,43 n=10	p>0,5	37,65±0,26 n=10	p>0,3	37,47±0,32 n=10	p>0,9
1x2 mg/ kg 6-AN	39,83±0,19 n=10	p>0,2	37,35±0,41 n=8	p>0,5	37,35±0,41 n=10	p>0,5
1x5 mg/ kg 6-AN	39,90±0,46 n=7	p>0,4	37,74±0,27 n=7	p>0,1	37,68±0,38 n=10	p>0,1
1x10 mg/ kg 6-AN	39,79±0,26 n=5	p>0,3	37,50±0,34 n=5	p>0,8	37,18±0,50 n=5	p>0,2

Einfluß von 6-AN nach täglicher Gabe von 1 mg/kg auf die Körpertemperatur

24 Std. p.i.

inji- zierte Menge	Körpertem- peratur in Grad C bei 39° C UT	p gegen- über den Kontrol- len	Körpertem- peratur in Grad C bei 22° C UT	p gegen- über d. Kontrol- len	Körpertem- peratur in Grad C bei 4° C UT	p gegen- über den Kontrol- len
Kontrol- len:						
1xNaCl	39,77±0,31 n=10		37,56±0,28 n=10		37,56±0,38 n=10	
5xNaCl	39,83±0,38 n=10		37,75±0,33 n=10		37,67±0,27 n=10	
9xNaCl	39,82±0,29 n=10		37,81±0,35 n=10		37,57±0,42 n=10	
1x1 mg/ kg 6-AN	39,86±0,43 n=10	p>0,5	37,74±0,49 n=10	p>0,3	37,42±0,34 n=10	p>0,3
5x1 mg/ kg 6-AN	40,02±0,30 n=10	p>0,1	37,54±0,42 n=10	p>0,2	37,17±0,21 n=10	p<0,002
9x1 mg/ kg 6-AN	39,60±0,33 n=10	p>0,1	36,81±0,29 n=10	p<0,002	35,80±0,34 n=10	p<0,001

nach 14 Tagen

Kontrol- len:						
1xNaCl	39,63±0,27 n=10		37,53±0,28 n=10		37,46±0,35 n=10	
5xNaCl	39,65±0,37 n=10		37,62±0,29 n=10		37,70±0,33 n=10	
9xNaCl	39,52±0,22 n=10		37,57±0,42 n=10		37,74±0,24 n=10	
1x1 mg/ kg 6-AN	39,80±0,43 n=10	p>0,5	37,65±0,26 n=10	p>0,3	37,47±0,32 n=10	p>0,9
5x1 mg/ kg 6-AN	39,81±0,24 n=9	p>0,7	37,48±0,30 n=9	p>0,3	37,41±0,51 n=9	p>0,2
9x1 mg/ kg 6-AN	39,47±0,24 n=9	p>0,5	37,42±0,35 n=9	p>0,3	37,56±0,33 n=9	p>0,2

Einfluß von 6-AN nach täglicher Gabe von 2 mg/kg auf die Körpertemperatur

24 Std. p.i.

inji- zierte Menge	Körpertem- peratur in Grad C bei 39° C UT	p gegen- über den Kontrol- len	Körpertem- peratur in Grad C bei 22° C UT	p gegen- über den Kontrol- len	Körpertem- peratur in Grad C bei 4° C UT	p gegen- über den Kontrol- len
Kontrol- len:						
1xNaCl	39,77±0,31 n=10		37,56±0,28 n=10		37,56±0,38 n=10	
2xNaCl	39,82±0,27 n=10		37,53±0,32 n=10		37,68±0,41 n=10	
3xNaCl	39,79±0,41 n=10		37,82±0,41 n=10		37,96±0,24 n=10	
4xNaCl	39,73±0,11 n=10		37,71±0,63 n=10		37,39±0,52 n=10	
1x2 mg/ kg 6-AN	39,81±0,17 n=10	p>0,7	37,58±0,41 n=10	p>0,8	37,32±0,44 n=10	p>0,2
2x2 mg/ kg 6-AN	39,93±0,31 n=10	p>0,3	37,64±0,47 n=10	p>0,5	37,63±0,31 n=10	p>0,7
3x2 mg/ kg 6-AN	40,06±0,47 n=9	p>0,2	37,24±0,29 n=9	0,01<p<0,002	36,87±0,58 n=9	p<0,001
4x2 mg/ kg 6-AN	40,17±0,64 n=10	p>0,1	36,14±0,59 n=10	p<0,001	34,67±1,33 n=10	p<0,001

nach 14 Tagen

Kontrol- len:			
1xNaCl	39,63±0,27 n=10	37,53±0,28 n=10	37,46±0,35 n=10
2xNaCl	39,79±0,21 n=10	37,67±0,08 n=10	37,58±0,31 n=10
3xNaCl	39,87±0,25 n=7	37,60±0,45 n=10	37,77±0,34 n=10
4xNaCl	39,60±0,26 n=9	37,54±0,38 n=9	37,70±0,38 n=9

(Fortsetzung der Tabelle von S. 63)

1x2 mg/ kg 6-AN	39,83 $\pm$ 0,19 n=10	p>0,2	37,35 $\pm$ 0,41 n=10	p>0,5	37,35 $\pm$ 0,41 n=10	p>0,5
2x2 mg/ kg 6-AN	40,07 $\pm$ 0,42 n=9	p>9,1	37,57 $\pm$ 0,34 n=9	p>0,5	37,53 $\pm$ 0,51 n=9	p>0,5
3x2 mg/ kg 6-AN	40,00 $\pm$ 0,24 n=7	p>0,2	37,62 $\pm$ 0,43 n=7	p>0,9	37,41 $\pm$ 0,52 n=7	p>0,9
4x2 mg/ kg 6-AN	39,70 $\pm$ 0,38 n=8	p>0,5	37,66 $\pm$ 0,36 n=8	p>0,4	37,56 $\pm$ 0,47 n=8	p>0,4

T a b e l l e 7 zu Abb. 8 und 9

Verlängerung der Hexobarbitalnarkose 24 Stunden nach einmaliger Gabe von 6-AN

inji- Menge	Narkosedau- er in Minu- teg bei 15 ⁰ C UT	p gegen- über der Narkose- dauer bei 22 ⁰ C UT	Narkosedau- er in Minu- teg bei 22 ⁰ C UT	p gegen- über den Kontrol- len	Narkosedau- er in Minu- teg bei 31 ⁰ C UT	p gegen- über d. Narkose- dauer b. 22 ⁰ C UT
Kon- trollen	79 $\pm$ 11,4 n=10		75 $\pm$ 9 n=10		71 $\pm$ 18,2 n=10	
1x5 mg/ kg 6-AN			94 $\pm$ 9,7 n=10	p<0,001		
1x10 mg/ kg 6-AN	141 $\pm$ 31,8 n=10	p>0,2	125 $\pm$ 10,7 n=9	p<0,001	135 $\pm$ 12,1 n=9	p>0,5
1x20 mg/ kg 6-AN	178 $\pm$ 50,8 n=10	p>0,05	146 $\pm$ 10,8 n=9	p<0,001		
1x50 mg/ kg 6-AN	210 $\pm$ 30,3 n=8	p<0,002	172 $\pm$ 21,6 n=10	p<0,001		
1x100 mg/ kg 6-AN	244 $\pm$ 42,0 n=8	p>0,02	196 $\pm$ 30,6 n=7	p<0,001		

(Fortsetzung der Tabelle von S. 64)

nach 14 Tagen

1x5 mg/ kg 6-AN	78 $\pm$ 14,2 n=10	p>0,5
1x10 mg/ kg 6-AN	82 $\pm$ 13,1 n=7	p>0,8
1x20 mg/ kg 6-AN	84 $\pm$ 14,0 n=4	p>0,7

Verlängerung der Hexobarbitalnarkose nach täglicher Gabe von 6-AN
(24 Std. nach der letzten Injektion)

injizierte Menge	Narkosedauer in Minuten bei 22° C UT	p gegenüber den Kontrollen
Kontrollen	75,0 $\pm$ 9 n=10	
2x2 mg/kg 6-AN	77,4 $\pm$ 20,5 n=9	p>0,8
3x2 mg/kg 6-AN	98,6 $\pm$ 17,4 n=10	p<0,001
4x2 mg/kg 6-AN	108,0 $\pm$ 18,8 n=9	p<0,001
5x1 mg/kg 6-AN	90,1 $\pm$ 8,1 n=10	p<0,002
9x1 mg/kg 6-AN	114,0 $\pm$ 20,4 n=7	p<0,001

T a b e l l e 8 zu Abb. 10

Veränderung der Spurenbreite von Ratten nach einmaliger Gabe
von 6-AN 24 Stunden und 14 Tage p.i. in mm

inji- zierte Menge	Mittelwert der Einzel- differenzen 24 Std. p.i.	p gegenüber unbehandel- ten Ratten	Mittelwert der Einzel- differenzen 14 Tage p.i.	p gegenüber unbehandel- ten Ratten
Kon- trollen 1xNaCl	-0,4±2,3 n=13		0 ±1,8 n=13	
1x1 mg/ kg 6-AN	-0,6±0,67 n=16	p>0,3	-1 ±0,93 n=16	p>0,2
1x2 mg/ kg 6-AN	+1,7±0,87 n=11	p>0,2	+1,5±0,26 n=11	p>0,3
1x5 mg/ kg 6-AN	+1,93±0,95 n=17	p>0,2	+8,3±1,19 n=14	p<0,001
1x10 mg/ kg 6-AN	+13,0±2,05 n=19	p<0,001	+15,3±3,1 n=12	p<0,001

nach täglicher Gabe von 1 mg/kg 6-AN

Kon- trollen: 1xNaCl	-0,4±2,3 n=13		0±1,8 n=13	
2xNaCl	-1,1±1,5 n=9		+0,9±1,5 n=9	
5xNaCl	+0,6±2,1 n=9		+1,3±1,7 n=9	
9xNaCl	+0,41±2,91 n=17		-0,1±2,3 n=17	
1x1 mg/ kg 6-AN	-0,6±0,67 n=16	p>0,3	-1±0,93 n=16	p>0,2
2x1 mg/ kg 6-AN	-1,7±1,4 n=14	p>0,2	+0,4±1,11 n=14	p>0,7
5x1 mg/ kg 6-AN	+5,1±1,07 n=20	p<0,001	+8,84±1,4 n=18	p<0,001
9x1 mg/ kg 6-AN	+6,8±1,14 n=21	p<0,001	+12,2±1,75 n=17	p<0,001

nach täglicher Gabe von 2 mg/kg 6-AN

inji- zierte Menge	Mittelwert der Einzel- differenzen 24 Std.p.i.	p gegenüber unbehandel- ten Ratten	Mittelwert der Einzel- differenzen	p gegenüber unbehandel- ten Ratten
Kon- trollen:				
1xNaCl	-0,4 $\pm$ 2,3 n=13		0 $\pm$ 1,8 n=13	
2xNaCl	-1,1 $\pm$ 1,5 n=9		+0,9 $\pm$ 1,5 n=9	
3xNaCl	-0,3 $\pm$ 1,4 n=24		-0,5 $\pm$ 1,6 n=24	
4xNaCl	+1,8 $\pm$ 1,2 n=12		+2 $\pm$ 1,6 n=12	
1x2mg/ kg 6-AN	+1,7 $\pm$ 0,87 n=11	p>0,9	+1,5 $\pm$ 0,26 n=11	p>0,3
2x2 mg/ kg 6-AN	+2,2 $\pm$ 1,02 n=21	p>0,5	+7,2 $\pm$ 1,38 n=18	p<0,001
3x2 mg/ kg 6-AN	+5,9 $\pm$ 1,37 n=20	p<0,001	+10,6 $\pm$ 1,67 n=20	p<0,001
4x 2mg/ kg 6-AN	+7,3 $\pm$ 1,74 n=21	p<0,001	+11,8 $\pm$ 1,74 n=20	p<0,001

T a b e l l e 9 zu Abb. 11

Einfluß einmaliger und täglicher Gaben von 6-AN auf die
Blutzuckerkonzentration

injizierte Menge	Blutzucker mg/%	p gegenüber den Kontrollen
Kontrollen	91,2 $\pm$ 12,1 n=10	
1x5 mg/kg 6-AN	102,0 $\pm$ 10,0 n=10	p>0,05
1x10 mg/kg 6-AN	116,0 $\pm$ 10,3 n=10	p<0,001
1x20 mg/kg 6-AN	181,0 $\pm$ 16,7 n=10	p<0,001
1x50 mg/kg 6-AN	235,0 $\pm$ 30,0 n=10	p<0,001
5x1 mg/kg 6-AN	97,2 $\pm$ 10,5 n=8	p>0,1
9x1 mg/kg 6-AN	97,2 $\pm$ 10,3 n=6	p>0,3
2x2 mg/kg 6-AN	98,5 $\pm$ 7,8 n=9	p>0,1
3x2 mg/kg 6-AN	101,0 $\pm$ 15,4 n=10	p>0,1
4x2 mg/kg 6-AN	88,0 $\pm$ 14,9 n=8	p>0,6

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- ANKERMANN, B.: Arzneimittel-Forsch. 8: 81 (1958).
- ARNAND, B.K., J.R. BROBECK: Yale J. Biol. Med. 24: 123 (1951).
- BARBOUR, H.G. Arch. exp. Path. Pharmac. 70: 1 (1912).
- BENDA, C.E., S.COBB: Medicine (Baltimore) 21: 95 (1942).
- BENITTE, A.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 222: 20 (1954).
- BENZINGER, T.H.: Proc. nat. Acad. Sci. Wash. 45: 645 (1959).
- BORZELLECA, J.F., R.W. MANTHEI: Arch. int. Pharmacodyn. 111: 296 (1957).
- BROBECK, J.R.: Yale J. Biol. Med. 29:565 (1957).
- : Handbook of Physiology. Vol. 2. Neurophysiology. Baltimore 1960. S. 1197.
- BROBECK, J.R., J. TEPPERMAN, C.N.H. LONG: Yale J. Biol. Med. 15: 831 (1943).
- BROBECK, J.R., S.LANSSON, E. REYES: J. Physiol. 132: 358 (1956).
- BROOKS, C.McC., K. KOIZUMI, J.L. MALCOLM: J. Neurophysiol. 18: 205 (1955).
- v. BRUCHHAUSEN, F.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 247: 87 (1964).
- : Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 250: 241 (1965).
- , H. HERKEN : Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 254: 388 (1966).
- BRÜCK, K., B. WÜNNENBERG: Pflügers Arch. ges. Physiol. 290: 167 (1966).
- , - : Pflügers Arch. ges. Physiol. 293: 215 (1967).
- BRUNNEMANN, A., H. COPER: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 246: 63 (1963).
- 1, -, D. NEUBERT: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 246: 437 (1964).
- CAMERON, C: Ergebn. Physiol. 41: 178 (1939).
- COOK, L., I.I. TONER, E.J. FELLOWS: J. Pharmacol. exp. Ther. 111: 131 (1954).
- COPER, H.: Symposion, veranstaltet von der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität vom 30. September bis 1. Oktober 1965. Stuttgart 1966, S. 275.
- , G. DEYLE, D. v. HERRATH, J. VEIT: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 260: 366 (1968).
- , H. HADASS, H. LISON: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 255: 97 (1966).
- , D.NEUBERT: Biochim. biophys. Acta 82: 167 (1964),

- COPER, H., D. NEUBERT: Biochim. biophys. Acta 89: 23 (1964).
- DANDIYA, P.C., G. JOHNSON, E.A. SELLERS: Canad. J. Biochem. 38: 591 (1960).
- DASGUPTA, S.R., K.L. MUKHERJEE, G. WERNER: Arch. int. Pharmacodyn. 97: 149 (1954).
- DECOURT, Ph., M. BRUNAUD, S. BRUNAUD: C.R. Soc. Biol. (Paris) 147,2: 1605 (1953).
- DENK, H., M. HAIDER, W. KOVAC, G. STUDYNKA: Acta neuropath. 10: 34 (1968).
- DIETRICH, L.S., L.A. KAPLAN, J.M. FRIEDLAND, D.S. MARTIN: Cancer Res. 18: 1272 (1958).
- DOCUMENTA GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen, 6. Aufl. (1960).
- DONHOFFER, Sz., M. FARKAS, A. HAUG-LASZLO, I. JARAI, GY.: Pflügers Arch. ges. Physiol. 268: 273 (1959).
- v. EULER, C.: Pharmacol. Rev. 13: 361 (1961).
- FÄHNDRICH, E.: Inaug.-Diss. Freie Universität Berlin (im Druck).
- FARRIS, E.J., J.Q. GRIFFITH: The Rat in Laboratory Investigation. Philadelphia (1949), 2nd Ed., S. 303.
- FELDBERG, W.: Acta Neuroveg. 30: 169 (1967).
- , S.L. SHERWOOD: J. Physiol. 123: 148 (1954).
- FRIEDMAN, A.H., EVERETT, G.M.: Advanc. Pharmacol. 3: 83 (1964),
- FUHRMAN, F.A.: Physiol. Rev. 26: 247 (1946).
- , FUHRMAN, G.J.: Ann. Rev. Pharmacol. 1: 65 (1961).
- GELLER, L.M., D. COWEN, A.WOLF: Exp. neurol. 14: 86 (1966).
- GIAJA, J., L. MARKOVIC-GIAJA: C.R. Soc. Biol. (Paris) 148,1: 842 (1954).
- GOODMAN, L., A. GILMAN: The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York (1958), S. 126.
- GREENGARD, P., E.B.SIGG, J. FRATTA, S.P. ZAK: J. Pharmacol. exp. 154: 624 (1966).
- HAHN, F.: Dtsch. med. J. 6: 293 (1955).
- HAIDER, M., J. LOEW, L. KRÜGER: Bakt., I Abt. Orig. 185: 1 (1962).
- , E. GROLL, G. STUDYNKA: Arch. Hyg. 151,7: 576 (1967).
- HART, J.S., O. HEROUX, F. DEPOCAS: J. app. Physiol. 9: 404 (1956).
- HASSLER, R.: Proc. 2nd Intern. Congr. Neuropathol., London (1955), S. 769. (Publ. 1957).
- HEMINGWAY, A., T. RASMUSSEN, H. WIKOFF, A.T. RASMUSSEN: J. Neurophysiol. 3: 329 (1940).
- HERKEN, H., H. COPER: Dtsch. med. Wschr. 88,42: 2025 (1963).
- †, V. NEUHOFF: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 247,3: 187 (1964).

- HERKEN, H., G. SENFT, B. ZEMISCH: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 249: 54 (1964).
- , -, -: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 253: 364 (1966).
- v. HERRATH, D.: Inaug.-Diss. Freie Universität Berlin. Berlin (1968).
- HERTER, F.P., S.G. WEISMAN, H.G. THOMSON, G. HYMAN, D.D. MARTIN: Cancer Res. 21: 31 (1961).
- HESS, W.R.: Brain Mechanisms and Conscience. Ed. by E.D.A.F. BREMER. Oxford (1954).
- HSIEH, A.C.L., L.D. CARLSON, G. GRAY: Amer. J. Physiol. 190: 247 (1957).
- HUGGETT, A.S.G., D.A. NIXON: Lancet 273, II: 368 (1957).
- IRIKI, M. K.A. MEURER, R. THAUER: Pflügers Arch. ges. Physiol. 279: 43 (1964).
- v. ISSEKUTZ, B.: Pflügers Arch. ges. Physiol. 247: 204 (1943).
- JOHNSON, W.J., J.D. MCCOLL: Science 122: 834 (1955).
- , -, : Fed. Proc. 15: 285 (1956).
- JUNG, R., R. HASSLER: Handbook of Physiology (Am. Physiol. Soc. Ed. by J. FIELD), Section I: Neurophysiology, Vol. II. Baltimore (1960), S. 863.
- KEESER, E., J. KEESER: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 179: 226 (1935).
- KELLER, A.D.: Am. J. med. Sci. 185: 746 (1933).
- KEPLINGER, M.L., G.F. LANIER, W.B. DEICHMANN: Toxicol. appl. Pharmacol. 1: 156 (1959).
- KHAIRY, M.: Quart. J. exp. Psychol. 11: 84 (1959).
- KLEBER, H.D., R.W. MANTHEI: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 107, 4: 975 (1961).
- KOHN-RICHARDS, R.: Am. J. Physiol. 126: 557 (1939).
- MAGOUN, H.W., F. HARRISON, J.R. BROBECK, S.W. RANSON: J. Neurophysiol. 1: 101 (1938).
- MATTENHEIMER, H.: Mikromethoden für klin. chem. und biochem. Laboratorium. Berlin (1961).
- MAYER, J., R.M. GREENBERG: Am. J. Physiol. 173: 523 (1953).
- MAYNERT, E.W., van DYKE, H.B.: J. Pharmacol. exp. Ther. 98: 184 (1950).
- NANNI, G., U.M. MARINARI, F.M. BACCINO: Ital. J. Biochem. 10: 275 (1961).
- NEUBERT, D., H. HERKEN: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 225: 453 (1955).
- NEUHOFF, V.: Unveröff. Manuskript.
- PERLIA, C.P., S. KOFMAN, H. SAY-PECK, S.A. TAYLOR: Cancer 14: 644 (1961).

- RANSON, S.W., H.W. MAGOUN: *Ergebn. Physiol.* 41: 100, 142 (1939).
 RAUTENBERG, W., E. SIMON: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 281: 332 (1964).
 RAVENTOS, J.: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 64: 355 (1938).
 REDETZKI, H.M., F. ALVAREZ-O'BOURKE: *J. Pharmacol. exp. Ther.* 137,2: 173 (1962).
 REICHLIN, S.: *Endocrinology* 66: 340 (1960).
 REWERSKI, W., A. JORI: *Med. exp.* 16: 355 (1967).
 ROOT, M.A., J. ASHMORE: *Naunyn Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* 248: 117 (1964).
 RUSHTON, R., H. STEINBERG, C.A. TINSON: *Brit. J. Pharmacol.* 20:99 (1963).
 SENFT, G., W. LOSERT, R. SITT, J. McEVOY, H. KAESS: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* 255: 388 (1966).
 SIMON, E., W. RAUTENBERG, R. THAUER, M. IRIKI: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 281: 309 (1964).
 SPIEGEL, E.A., H.T. WYICIS: *Pathogenesis and Treatment of Parkinsonism*. Ed. by W.S. FIELD. Springfield 1958, S. 86.
 SULLIVAN, W.T., L.M. STRONG: *J. Nutr.* 65: 199 (1958).
 SCHACHT, U., G. SCHULTZ, G. SENFT: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* 250: 281 (1965).
 SCHNEIDER, H., H. COPER: *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 211: 138 (1968).
 SCHNEIDER, M.: *Physiologie des Menschen*. 13./14. neubarb. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960.
 SCHNEIDER, M., H. HIRSCH: *Med. Klin.* 54: 933 (1959).
 SCHOTLAND, D.L., D. COWEN, L.M. GELLER, A. WOLF: *J. Neuropath. exp. Neurol.* 24: 97 (1965).
 SCHULTZ, G., G. SENFT, W. LOSERT, U. SCHACHT: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* 253: 345 (1966).
 STERN, J., A.A. WARD: *Arch. Neurol.* 6: 404 (1962).
 STERNBERG, S.S., F.S. PHILIPS: *Science* 127: 644 (1958).
 STRÖM, G.: a: *Acta physiol. scand.* 20: suppl. 70, 47 (1950),
 b: *Acta physiol. scand.* 20: suppl. 70, 77 (1950),
 c: *Acta physiol. scand.* 20: suppl. 70, 83 (1950).
 TEAGUE, R.S., S.W. RANSON: *Am. J. Physiol.* 117: 562 (1936).
 THAUER, R.: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 236: 102 (1935).
 - : *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 246: 372 (1943).
 - : *Klin. Wsch.* 36: 989 (1958).
 -, G. PETERS: *Arch. ges. Physiol.* 239: 438 (1937).
 USINGER, E.: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 265: 365 (1957).
 VOGT, M.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* 178: 603 (1935).

- WARD, A.A., W.S. McCULLOCH, H.W. MAGOUN: J. Neurophysiol. 11: 317 (1948).
- WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik. 9. Aufl. Jena 1961.
- WIEDERHOLT, M., K. KIERHOLZER, G. SENFT, H. HERKEN: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 261: 143 (1968).
- WINNE, D.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. 247: 278 (1964).
- WOLF, A., D. COWEN: Bull.NY. Acad. Med. 35: 814 (1959).
- , -, L.M. GELLER: Proc. IV.th Intern. Congr. Neuropathol., Vol. III. Stuttgart (1962), S. 447.
- ZIPR, H.F., R. ALTSTAEDTER: Arzneimittel-Forsch. 4: 14 (1954).

Herrn Professor Dr.med. H. Coper danke ich herzlich für die zahlreichen Ratschläge und Anregungen, die für die Durchführung und Abfassung der Arbeit eine wertvolle Hilfe bedeuteten. Meinen besonderen Dank möchte ich ihm dafür aussprechen, daß er jederzeit bereit war, anstehende Probleme mit mir zu diskutieren.

Herrn Professor Dr.med. H. Herken danke ich, daß er es mir ermöglichte, in seinem Institut die dargestellten Untersuchungen durchzuführen.

LEBENS LAUF

Am 28. April 1934 wurde ich als Sohn des Polizeibeamten Hermann Lison und seiner Ehefrau Marie, geborene Dallek, in Rosmierka Kreis Groß-Strehlitz, Oberschlesien geboren. Die Volksschule besuchte ich in Rudgershagen Kreis Gleiwitz, Oberschlesien. 1945 flüchtete die Familie nach Ehingen/Donau. Die Gymnasialzeit verbrachte ich im humanistischen Gymnasium in Ehingen und in den ev. theol. Seminaren Schöntal/Jagst und Urach/Erms. Hier bestand ich 1954 die Reife- und Konkursprüfung.

Im gleichen Jahr nahm ich in München das Studium auf und bestand 1956 die Diplomvorprüfung für Psychologen. Im folgenden Jahr studierte ich an der Sorbonne in Paris. 1957 immatrikulierte ich mich an der Freien Universität Berlin und beendete 1959 das Psychologiestudium mit der Diplomprüfung.

Im Sommersemester 1959 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin, das ich wegen einer Inhaftierung in der DDR aus politischen Gründen zwei Jahre unterbrechen mußte. 1963 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, 1967 das medizinische Staatsexamen.

Während der Ausbildungszeit als Medizinalassistent arbeitete ich im Krankenhaus des ev. Johannesstiftes, Spandau, auf der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe im Städtischen Krankenhaus am Mariendorfer Weg, auf der Chirurgischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhaus und in der I. Medizinischen Universitätsklinik im Städtischen Krankenhaus Westend.

Seit der mir am 1.10. 1968 erteilten Approbation als Arzt bin ich im Institut für Neuropsychopharmakologie der Freien Universität Berlin als wissenschaftlicher Assistent tätig.

